Année Scolaire
1969

N° 3

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Stéphane SOLAR

PHARMACIEN-CHIMISTE DES ARMÉES

DIPLÔMÉ DU CERTIFICAT D'ÉTUDES SUPÉRIEURES DE TOXICOLOGIE ET HYGIÈNE INDUSTRIELLE

DIPLÔMÉ DES CERTIFICATS D'ÉTUDES SUPÉRIEURES DE M.P.C., CHIMIE GÉNÉRALE I, CHIMIE ORGANIQUE, PHYSIQUE EXPÉRIMENTALE ET CHIMIE-PHYSIQUE GÉNÉRALE

né à Saint-Gaudens (Haute-Garonne), le 2 août 1943

Sujet : **ESSAI DE DOSAGE TOXICOLOGIQUE DE L'ARSENIC par colorimétrie molybdique après isolement par le diéthyl-di-thio-carbamate ou par la Thionalide.**

Présentée et soutenue publiquement le 24 novembre 1969 devant la Commission d'Examen :

Examinateurs de la thèse :

MM. R. CASTAGNOU, Professeur..... *Président.*

R. QUILICHINI, Professeur ..... *Juges*

Mlle S. LARCEBAU, Maitre de conférences agrégé.. *Juges*

— 1969 —

Année Scolaire
1969

N° 3

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Stéphane SOLAR

PHARMACIEN-CHIMISTE DES ARMÉES

DIPLÔMÉ DU CERTIFICAT D'ÉTUDES SUPÉRIEURES DE TOXICOLOGIE ET HYGIÈNE INDUSTRIELLE

DIPLÔMÉ DES CERTIFICATS D'ÉTUDES SUPÉRIEURES DE M.P.C., CHIMIE GÉNÉRALE I, CHIMIE ORGANIQUE, PHYSIQUE EXPÉRIMENTALE ET CHIMIE-PHYSIQUE GÉNÉRALE

né à Saint-Gaudens (Haute-Garonne), le 2 août 1943

Sujet : **ESSAI DE DOSAGE TOXICOLOGIQUE DE L'ARSENIC par colorimétrie molybdique après isolement par le diéthyl-di-thio-carbamate ou par la Thionalide.**

Présentée et soutenue publiquement le 24 novembre 1969 devant la Commission d'Examen :

Examinateurs de la thèse :

MM. R. CASTAGNOU, Professeur..... *Président.*

R. QUILICHINI, Professeur ..... } *Juges*

Mlle S. LARCEBAU, Maitre de conférences agrégé.. }

— 1969 —

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOYENS HONORAIRES : MM. G. PORTMANN, R. SIGALAS, F. TAYEAU.
DOYEN : M. H. BRICAUD. — **ASSESSEURS :** MM. J. MASQUELIER, N...

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. CHARRIER, DUBREUIL, CREYX, DARGET, R. SIGALAS, G. PORTMANN, M. RIVIÈRE, R. GIRARD, C. PIFFAULT, R. FABRE, R. DUFOUR, P. FOURMENT, E. AUBERTIN, X. J. DUBECQ, L. MASSÉ, A. LACHAPÈLE, G. VITTE, J. DESPONS, G. DUBOURG.

MAITRE DE CONFÉRENCES AGRÉGÉ HONORAIRE : M. BERGER.

MM.	PROFESSEURS TITULAIRES
P. DELMAS-MARSALET....	Clinique des maladies nerveuses et mentales.
P. DERVILLÉE.....	Médecine légale et Médecine du travail.
R. MANDOUL.....	Zoologie et parasitologie.
R. CASTAGNOU.....	Toxicologie et hygiène appliquée.
J. REBOUL.....	Carcinologie.
P. MESNARD.....	Chimie organique et Chimie analytique.
R. GRANDPIERRE.....	Physiologie.
P. BROUSTET.....	Clinique médicale cardiologique.
N.....	Clinique chirurgicale.
F. TAYEAU.....	Biochimie médicale A.
G. MAYER.....	Histologie et embryologie.
P. BLANQUET.....	Physique nucléaire appliquée et radiobiologie.
R. SARIC.....	Clinique médicale.
L. POUYANNE.....	Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique.
J.-J. DUBARRY.....	Hydro-climatologie thérapeutique et clinique des maladies de l'appareil digestif.
F.-J. TRAISSAC.....	Clinique thérapeutique.
R. MAHON.....	Clinique d'accouchements.
R. PAUTRIZEL.....	Immunologie et biologie parasitaire.
M[lle] G. ROUGIER.....	Biologie appliquée à l'éducation physique et aux sports.
G. MOUSTARDIER.....	Bactériologie.
E. BESSIÈRE.....	Clinique ophtalmologique.
H. LEGER.....	Anatomie pathologique.
J. MASQUELIER.....	Matière médicale.
G. MORETTI.....	Clinique médicale propédeutique et médecine tropicale.
N.....	Clinique oto-rhino-laryngologique.
P. LAUMONIER.....	Clinique chirurgicale pleuro-pulmonaire.
J. LENG-LÉVY.....	Clinique médicale et des maladies infectieuses.
R. LETAC.....	Pathologie et recherche chirurgicales.
R. QUILICHINI.....	Pharmacie galénique.
E. NEUZIL.....	Biochimie médicale B.
R. STOLL.....	Biologie.
J. LANGE.....	Clinique urologique.
P. FRÉOUR.....	Hygiène et Clinique de pneumophtisiologie.
F. RIGAUD.....	Anatomie.
J. FAURE.....	Médecine expérimentale et physiopathologie.
N.....	Clinique chirurgicale des maladies cardiaques.
J. VILLAR.....	Clinique gynécologique.
P. LE COULANT.....	Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.
M. BERGOUIGNAN.....	Pathologie nerveuse et mentale.
J. DUHAMEL.....	Physique médicale et pharmaceutique.
R. BABIN.....	Pharmacie chimique.
H. CHOUSSAT.....	Pathologie médicale.
L. CHASTRUSSE.....	Clinique obstétricale.
P. VERGER.....	Clinique médicale des maladies des enfants.
F. LAPORTE.....	Chirurgie générale.
R. TINGAUD.....	Clinique chirurgicale.
H. LAUBIE.....	Botanique et cryptogamie.
Cl. RICHIR.....	Anatomie pathologique.
R. GOLSE.....	Chimie générale et Chimie minérale.
J. BAILENGER.....	Zoologie et biologie animale.
J.-Cl. COLLETER.....	Chimie analytique.
H. BRICAUD.....	Médecine générale.
P. BENOIT.....	Clinique odonto-stomatologique.
Cl. MARTIN-DUPONT.....	Clinique néphrologique
J. CANELLAS.....	Pharmacodynamie et hydrologie.
R. CANIVENC.....	Histologie.
G. DELORME.....	Electroradiologie.
J. DEPAULIS.....	Séméiologie chirurgicale.
J. RIVIÈRE.....	Séméiologie médicale.
H. DULONG DE ROSNAY...	Bactériologie.
R. CROCKETT.....	Chimie organique et chimie analytique.
R. DARMAILLACQ	Chirurgie générale.
H. POUYANNE.....	Clinique neuro-chirurgicale.

PROFESSEURS SANS CHAIRE

MM.	
J. DAVID-CHAUSSÉ	Médecine générale.
J. MARQUEVIELLE	Biochimie médicale.
M. BLANC	Neuro-psychiatrie.
Cl. MASSÉ	Chirurgie générale.
R. MARAUD	Histologie et embryologie.
P. DU PASQUIER	Bactériologie.
J. STAEFFEN	Médecine générale.
J.-P. DUBECQ	Obstétrique.
G. NEVERRE	Physiologie.
J. MEUNIER	Histologie.
A. SERISÉ	Hygiène.
P. FERRET-BOUIN	Physique médicale.
J. VIDEAU	Anatomie.
R. CASTAING	Médecine générale et thérapeutique.
P. BLANCHOT	Médecine générale.
L. DOUTRE	Chirurgie générale.
P. LOISEAU	Neuro-psychiatrie.
Cl. VRIGNAUD	Physique pharmaceutique.
P. SOURREIL	Dermato-vénéréologie.

MAITRES DE CONFERENCES AGRÉGÉS :

MM.	
R. JENSEN	Chimie biologique.
J. BROUSSIN	Electroradiologie.
R. TESSIER	Pneumo-phtisiologie.
Mme J. SÉCHET	Biochimie médicale.
C. LAGARDE	Carcinologie.
C. BÉRAUD	Thérapeutique.
H. LAZARINI	Médecine légale et Médecine du travail.
J. SOUMIREU-MOURAT	Obstétrique.
G. CABANIEU	Médecine générale.
R. LE LOURD	Pneumo-phtisiologie.
L. COURAUD	Chirurgie générale.
J. BENTÉGEAT	Hématologie.
L. ARNÉ	Médecine générale et thérapeutique.
Cl. MARTIN	Pédiatrie.
R. BAUTE	Cryptogamie.
V. DARGELOS	Microbiologie.
Mlle S. LARCEBAU	Toxicologie.
C. WONÉ	Médecine générale et thérapeutique.
J. JULIEN	Médecine générale et thérapeutique.
J.-J. BATTIN	Pédiatrie.
M. DALLOCCHIO	Cardiologie et maladies vasculaires.
J. AUBERTIN	Maladies infectieuses.
P. VÉRIN	Ophtalmologie.
M. GOT	Neuro-chirurgie.
J. TAVERNIER	Electroradiologie : diagnostic et thérapeutique.
J. VINCENT	Physiologie et explorations fonctionnelles.
L. CHEVAIS	Anesthésiologie.
G. GILLARDEAU	Anesthésiologie.
J. HONTON	Orthopédie et traumatologie.
M. BOMBART	Orthopédie et traumatologie.
A. HUGUES	Cancérologie.
M. SABATHIÉ	Anesthésiologie.

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

MM.	
M. PORTMANN	Oto-rhino-laryngologie.
F. BALLANGER	Urologie.
P. BIRBIS	Chirurgie générale.
J.-P. CALAMEL	Chirurgie générale.
L. TEXIER	Dermato-syphiligraphie.
R. GENESTE	Orthopédie.
F. FONTAN	Chirurgie générale.
J. LASSERRE	Orthopédie.

.../...

AGRÉGÉS LIBRES

MM.	
G. FAUGÈRE.....	Obstétrique.
M. L'ÉPÉE.....	Médecine légale.
H. CABANIÈ.....	Anatomie.
L. CORCELLE	Ophtalmologie.

CHARGÉS DES FONCTIONS DE MAITRE DE CONFÉRENCES :

MM.	
P. BONJEAN.....	Anatomie.
M. LAHOURCADE.....	Parasitologie.
M. SENTENAC.....	Anatomie.
G. DELMON.....	Anatomie pathologique.
J. TRIBOULEY.....	Immunologie, sérologie.
F.-X. MICHELET.....	Stomatologie.
E. JOUZIER	Chimie biologique (Pharmacie).
L. PINSON	Oto-rhino-laryngologie.
F. COHADON	Neuro-chirurgie.
J.-Cl. ROQUES	Physique médicale.
P. ESCHAPASSE	Physique médicale.
J. PACCALIN	Médecine générale et thérapeutique.

Le Conseiller administratif, Chef des services administratifs :
André ARGILAS.

L'Attaché d'administration universitaire, Directeur du cabinet :
Madame M. C. CHAPENOIRE.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation, ni improbation.

A MA FEMME

A MA GRAND-MERE

A MES PARENTS

A TOUS LES MIENS

A TOUS MES AMIS

A MES CAMARADES

de l'Ecole de Santé Navale

A NOS PROFESSEURS et AUX OFFICIERS

de l'Ecole Principale

du Service de Santé de la Marine

A Monsieur le Médecin Général de 2ème Classe N U N

Directeur de l'Ecole Principale
du Service de Santé de la Marine.

Spécialiste des Hôpitaux des Armées

Chevalier de la Légion d'Honneur

Officier de l'Ordre National du Mérite

Croix de Guerre 1939-1945

A Monsieur le Médecin en Chef de 1ère Classe L E S T A G E

Sous-Directeur de l'Ecole Principale
du Service de Santé de la Marine

Chevalier de la Légion d'Honneur

A NOS JUGES

Monsieur le Professeur J.Cl. COLLETER

Monsieur le Professeur J. CANELLAS

Vous nous faites le grand honneur de juger ce travail.

Nous vous prions de trouver ici l'expression de notre plus vive gratitude.

A NOS JUGES

Mademoiselle le Professeur S. LARCEBAU

Maître de conférence Agrégée de Toxicologie
Docteur en Pharmacie (Etat)
Docteur en Médecine
Licenciée ès Sciences
Chevalier des Palmes académiques

Nous vous sommes très reconnaissant de l'honneur que vous nous faites en acceptant de siéger dans notre Jury.

Soyez remerciée de la compréhension et de la bienveillance que vous nous avez toujours témoignées.

Monsieur le Professeur R. QUILICHINI

Professeur de Pharmacie Galénique et de Pharmacologie
Docteur ès Sciences
Officier des Palmes académiques
Professeur de Pharmacologie à la Faculté de Médecine de Tabriz (Iran)

Nous sommes profondément honoré de votre présence parmi nos Juges.

Veuillez trouver ici l'expression de notre respectueuse gratitude.

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur R. CASTAGNOU

Professeur de Toxicologie et Hygiène Appliquée
Pharmacien des Hôpitaux psychiatriques
Docteur en Médecine
Membre de l'Académie de Pharmacie
Chevalier de l'Ordre National du Mérite
Officier des Palmes académiques

Vous avez su nous communiquer au cours de votre enseignement comme dans votre Laboratoire un intérêt profond pour la Toxicologie.

Nous vous remercions d'avoir bien voulu nous confier le sujet de cette Thèse.

Avec une patience jointe à une indulgence toujours bienveillante vous nous avez guidé tout au long de ce travail.

Permettez-nous de vous exprimer notre profonde reconnaissance au moment où nous quittons avec regret votre Service.

AVANT-PROPOS

****

Monsieur le Professeur CASTAGNOU nous a inspiré ce sujet de Thèse qui poursuit la lignée des travaux du Laboratoire en vue de mettre au point une technique rapide de dosage de l'Arsenic en particulier dans les urines.

Nous remercions, pour leurs conseils prodigués sans réserves, au cours du travail expérimental, les membres du Laboratoire de Toxicologie et tout particulièrement Madame M. BONINI qui nous aida avec une grande patience et qui nous fit profiter de son expérience.

Nous remercions également, Madame Violette RODRIGUEZ qui a apporté tout son soin à la réalisation technique de ce travail et Mademoiselle Françoise CORNUS qui, avec son efficacité et son initiative habituelle a assuré la mise en page de cette Thèse.

****

I N T R O D U C T I O N

****

Le taux normal d'élimination de l'Arsenic dans les urines d'un sujet varie généralement de 10 à 150 mcg par 24 h suivant son alimentation. Les prises d'essai, en vue de la détermination de l'arséniurie, portent en général, sur un volume de 100 ml d'urines.

Un individu moyen éliminant 1,5 litre d'urines par 24 heures (soit 1 ml par Kg et par heure) on doit pouvoir être en mesure de doser, avec suffisamment de précision, des quantités d'Arsenic comprises entre 1 et 10 mcg ; une quantité supérieure à 10 mcg dans la prise d'essai de 100 ml entraîne une suspicion d'arsenisme ; une quantité supérieure à 20 mcg est la signature d'une intoxication arsenicale.

Les urines, classiquement, sont soumises à une destruction nitrosulfurique et le liquide de destruction contient l'Arsenic sous forme ionique d'arseniate AsO_4^{3-}.

Le problème consiste donc à doser l'ion arsenique sur ce liquide de destruction et la difficulté provient de la similitude presque parfaite de ses réactions analytiques avec celles de l'ion phosphate et cela d'autant plus que l'élimination urinaire phosphatée concomitante est très importante puisque un individu élimine journellement de 2 à 3,20 grammes de P_2O_5 ce qui correspond, dans la prise d'essai, à une présence de 0,06 à 0,1 g de phosphore c'est à dire à une concentration 10^5 fois plus importante que celle de l'Arsenic.

Dans toutes les méthodes de dosage direct on voit donc que l'interférence du phosphore est tellement massive que toute possibilité de détermination des arséniates est exclue tant que la séparation de l'un et de l'autre de ces ions n'aura pas été réalisée.

Nous utiliserons principalement la précipitation et l'extraction sélective. Classiquement cette séparation est obtenue :

. par floculation de l'Arsenic zéro, (type méthode de Bougault) ; la sensibilité de cette réaction est nettement insuffisante dans le problème qui nous intéresse.

. par Hydruration de l'ion arsenique en AsH_3 gazeux, ce dernier aisément dosable par de multiples méthodes très sensibles. Mais l'expérience a montré que cette hydruration n'étant jamais totale, toutes les techniques basées sur ce principe avaient l'inconvénient majeur de n'être que comparatives.

C'est pourquoi, abandonnant ces chemins battus, nous avons tenté d'appliquer des méthodes séparatives basées sur la précipitation ou l'extraction sélective de combinaisons arseniées ou phosphatées diverses.

****

PREMIERE PARTIE

****

HISTORIQUE DES METHODES PROPOSEES

Dans cette première partie, nous effectuerons un rappel bibliographique des méthodes proposées par divers auteurs dans le sens qui nous intéresse. Après un exposé succint de chacune d'entre-elles, nous développerons celles qui paraissent avoir un intérêt toxicologique.

A - METHODES PAR PRECIPITATION

1° - Mixture magnésienne : elle conduit à la formation d'un précipité mixte de phosphate et arséniate ammoniaco-magnésien. Elle est utilisable pour concentrer les arséniates.

2° - Molybdates : les phosphates, arséniates et silicates donnent des complexes molybdiques plus ou moins stables suivant le pH et plus ou moins solubles suivant la base qui neutralise l'ion molybdique. Ces bases peuvent être minérales (ammoniaque) ou organiques (quinoléine - lutidine 2-6).

a) - Molybdates d'Ammonium : le précipité arsénio-molybdique présente une solubilité plus importante que celle de la combinaison phosphatée ; la limite de sensibilité n'est que de 70 ppm.

b) - Molybdate de quinoléine : la coprécipitation des arséniates en présente de phosphates est presque parfaite mais la séparation de ces deux combinaisons doit être assurée par d'autres techniques. Il y a isolement et concentration mais cet isolement n'est pas sélectif.

c) - Molybdate de lutidine 2-6 : le molybdate de lutidine a une action sélective sur les deux ions. L'arsenio-molybdate de lutidine est maintenu en solution alors que le phospho-molybdate de lutidine 2-6 est précipité.

Cette méthode peut être couplée avec une méthode d'extraction sélective pour éliminer les phosphates restants. La trop grande disproportion dans un liquide de destruction entre la concentration en phosphates et en arséniates ne peut en aucun cas la rendre suffisamment précise.

B - METHODES PAR EXTRACTION

Certains complexes arsenio-molybdiques et phospho-molybdiques peuvent, suivant la valeur du pH, être extraits sélectivement par des solvants organiques ; par exemple :

. à pH = 1 le n-butanol extrait 99,9 p.100 du complexe phospho-molybdique,

. à pH = 2 la cyclohexanone extrait 97,9 p.100 du complexe arsenio-molybdique.

On constate que, par la première méthode, on peut abaisser le taux maximum de 100 mg de P à 2 mcg dans la prise d'essai.

C - METHODES CHIMIQUES REDUCTIMETRIQUES

Elles sont basées sur la différence de stabilité entre l'ion PO_4^{3-} et l'ion arséniate AsO_4^{3-}.

La réduction de l'ion arséniate est sélective et peut être opérée sur le précipité mixte phosphaté et arsénié de molybdate de quinoléine. Nous mentionnerons entre autre comme exemples :

- La méthode de DREULLE consistant en une réduction des arséniates à l'aide d'un réducteur doux ($TiCl_3$, IK etc...) on extrait l'Arsenic trivalent formé par le xanthate d'éthyle et on le réoxyde, après évaporation de la phase organique, par un oxydant fort (eau de brome concentrée) ; l'arséniate isolé est alors dosé par les habituelles méthodes colorimétriques.

Rappelons dans ce paragraphe, les méthodes de réduction plus poussées :

- Méthode de BOUGAULT,

- Méthodes avec dégagement de AsH_3.

D - DOSAGES COLORIMETRIQUES APPLICABLES A L'ION ARSENIATE ISOLE

Les seules méthodes de dosage possibles pour les quantités d'arséniate qui nous intéressent sont des techniques colorimétriques.

1° - Coloration bleue céruléo-molybdique,

2° - Coloration jaune du complexe molybdique β stabilisé et non réduit. Cette stabilisation est obtenue par le doublet libre de l'acétone ou de l'éther ; on peut extraire la coloration par l'acétate d'iso-amyle ; la pente de la droite c = F (I) est très faible et la précision en souffre.

3° - Coloration avec les hétérosides.

Ces méthodes sont proposées par TAKASKI TANAKA (1).

a) - Rutoside : une solution arsenicale (AsV), mélangée à un solvant volatil et évaporée à 70° est additionnée d'acide acétique et d'une solution de Rutoside dans le méthanol. On évapore à 90° puis on reprend avec de l'éthanol. On lit la coloration à 450 mμ . Précision annoncée 1 ppm ± 4 p.100.

b) - Quercetoside : la technique est identique à la précédente en utilisant une solution de quercétoside dans l'éthanol ; l'absorption maximum se fait à 398 mμ . La courbe c = F (I) est linéaire ; l'intérêt de cette méthode est important car les phosphates n'interfèrent pas si ceux-ci sont en quantité inférieure à 0,1 mg dans la prise d'essai.

Cette méthode est valable pour une quantité d'arséniates inférieure ou égale à 2 ppm.

Toutes ces méthodes, sauf la dernière, ne sont valables qu'après avoir pratiqué une séparation totale des phosphates.

ETUDE PARTICULIERE DES DIFFERENTES TECHNIQUES PROPOSEES PAR DES AUTEURS DANS CHAQUE GROUPE PREALABLEMENT CITE

A - METHODE DE PRECIPITATION

1° - Arséniates ammoniacaux magnésiens :

L'ion arséniate précipite avec le réactif magnésien en donnant un composé complexe insoluble contenant ($MgNH_4AsO_4$) en grande quantité mais aussi ($Mg_3(AsO_4)_2$) et ($Mg(NH_4)_4(AsO_4)_2$). La solubilité relativement élevée du précipité (une partie est soluble dans 24.600 parties de solution) rend cette méthode peu précise. Il apparaît cependant que les phosphates jouent un rôle de relargants.

Le précipité recueilli ne pouvant être pyrolysé à cause de la grande volatilité de l'Arsenic, FABRE et CISMARU ont préconisé cette technique comme moyen de concentration dans un liquide de destruction. Ils dosent ultérieurement l'Arsenic par les méthodes classiques de réduction soit en As° soit en AsH_3.

2° - Précipitation de l'arsénio-molybdate d'ammonium :

En présence d'un excès de réactif nitro-molybdique à l'ébullition, l'ion arséniate forme un précipité jaune de molybdato-arséniate d'ammonium :

$$(NH_3)_3 H_4 (As(MoO_7)_6), 4 H_2O.$$

Ce précipité se forme plus lentement que celui donné par les phosphates. Ici encore malheureusement, on est en présence d'un produit de solubilité important pour le dérivé arsénical ce qui limite la méthode en précision à 70 ppm ; l'acide tartrique empêche la précipitation du dérivé arsénio-molybdique mais la méthode reste malgré tout peu précise même pour une séparation en bloc des phosphates et des arséniates.

2° - Précipitation de l'arséno-molybdate de quinoléine :

WILSON (2) a repris la méthode de précipitation des phosphates et des arséniates par le réactif molybdique en remplaçant l'ion ammonium par la quinoléine ce qui permet une précipitation plus complète et plus efficace des arséniates jointe aux phosphates. Il applique, ensuite, pour les phosphates, un dosage pondéral sur le précipité de phospho-molybdate de quinoléine.

P.B. HESLOP et E.F. PEARSON (3) ont étudié la précipitation du phospho-molybdate de quinoléine et de l'arséno-molybdate de quinoléine. Ils ont constaté une coprécipitation presque parfaite de ces deux composés.

Réactifs :

- Analar grade trioxyde de molybdène ..... 150 g
- NaOH ..... 50 g
- Eau ..... 600 ml
- HCl concentré ..... 500 ml
- H_2O_2 100 volumes ..... quelques gouttes
- Quinoléine ..... 28 ml

Préparation du réactif :

. Ajouter 150 g de trioxyde de molybdène à une solution de 50 g de lessive de soude dans 600 ml d'eau ; chauffer jusqu'à dissolution ; laisser refroidir (coloration verte).

. Ajouter ensuite 500 ml d'acide chlorhydrique concentré jusqu'à dissolution du précipité primitivement obtenu.

. Ajouter H_2O_2 à 100 volumes jusqu'à réapparition de la coloration verte.

. Préparer d'autre part une solution à 28 ml de quinoléine fraîchement distillée dans 600 ml d'acide chlorhydrique au demi.

. Les deux solutions sont alors mélangées en totalité, chauffées à ébullition et abandonnées durant 24 h à température ordinaire. La solution est diluée à 2 l; filtrée et conservée dans un flacon en matière plastique.

Technique :

Ajouter 20 ml de réactif à V ml de la solution à étudier contenant phosphates et arséniates (si leur poids excède 15 mg).

Le précipité est recueilli par filtration.

Résultats :

a) - Proportion stoeckiométrique Réactif/PO_4 = 1 :

- Quand le molybdate de quinoléine est ajouté goutte à goutte à une solution bouillante contenant les phosphates, la méthode radiochimique confirme que le phosphore est quantitativement précipité sous forme de phospho-molybdate de quinoléine. Si la solution est maintenue à ébullition durant six minutes après l'adjonction du réactif 99,3 p.100 du phosphore présent est précipité.

- A la température de 70° on observe la précipitation de 99,35 p.100 du phosphore présent.

b) - Proportion stoeckiométrique Réactif/PO_4 = 4 :

Cet excès de réactif permet de supprimer l'effet génant des ions interférants au premier rang desquels figure le fer (III) ; il permet en outre de précipiter 99,93 p.100 du phosphore présent ; les arséniates sont entièrement précipités .

Résultats obtenus :

ml molybdate quinoléine	Proportion stoeckiométrique	Efficacité de récupération en p. 100
0,5	1	99,31
0,75	1,5	99,71
1,0	2	99,91
1,5	3	99,92
2,0	4	99,92
5,0	10	99,96

Nuro FERLUND et Sepp ZECHNER (4) ont proposé antérieurement les techniques suivantes basées sur le même principe.

Réactifs :

- Solution aqueuse de chlorate de potassium : 60 g p.1000
- $Na_2MO_7O_4$, 2 H_2O ..... 250 g
- HCl (c) ..... 460 ml
- H_2O_2 30 volumes ..... quelques gouttes
- Quinoléine ..... 28 ml
- HCl ..... 600 ml

Ce réactif est préparé comme précédemment indiqué.

Technique :

Le phospho-molybdate de quinoléine précipité quantitativement si l'acidité de la solution traitée est préalablement comprise entre 0,9 M et 1,6 M.

La température n'a aucune action sur l'intensité de la précipitation, toutefois, le précipité est plus facile à recueillir si l'on opère à l'ébullition.

Ajouter q.s. de ClH à la prise d'essai jusqu'à ce que la concentration atteigne l'intervalle des valeurs nécessaires à la précipitation ($0,9 \leq c \leq 1,6$) puis quelques gouttes de la solution de $K\,ClO_3$: chauffer à ébullition puis ajouter immédiatement 20 ml de réactif au molybdate de quinoléine s'il y a plus de 15 mg de phosphates (10 ml s'il y en a moins).

Le précipité obtenu est jaune cristallisé.

Filtrer, laver d'abord à l'acide chlorhydrique 1 M puis à l'eau.

Conclusions de ces deux méthodes :

Ce procédé permet d'isoler en bloc les phosphates et les arséniates du liquide de destruction, la précision est excellente car une quantité de 0,5 mcg de phosphore ou d'arsenic donne, avec le molybdate de quinoléine, un précipité visible à l'oeil nu.

Dans le cas qui nous intéresse, on peut considérer qu'il y aura une coprécipitation importante puisque les phosphates précipitant entraîneront les arséniates et joueront un rôle de relargants.

Pour dissoudre le précipité il suffit de passer en milieu alcalin ; la réaction suivante s'effectue :

$(C_9H_7N)_3H_3\ (AsO_4,\ 12\ MoO_3) + 26\ NaOH \rightarrow Na_2HAsO_4 + 3\ C_9H_7N + 14\ H_2O + 12\ Na_2MoO_4$.

PRECIPITATION SELECTIVE DES PHOSPHO-MOLYBDATES ET DES ARSENIO-MOLYBDATES

a) Utilisation et essais de diverses bases organiques

SONNERSCHEIN en 1857 testa l'action d'alkylamines pour neutraliser les acides molybdiques. L'éthanolamine, la butylamine, l'o-phénétidine ne donnèrent aucun résultat.

D'autres, par contre, donnèrent des précipités visibles en laissant intacts les arséniates et les silicates.

Nous citerons le benzotriazole, le tétraméthylamine, la choline, l'hexamine et la mélamine. Malgré tout la sensibilité n'est pas suffisante pour un travail quantitatif ; il faut noter toutefois l'intérêt que peuvent présenter ces bases pour notre travail au niveau de l'élimination en première approximation de l'ion phosphate.

Seules les bases organiques suivantes donnèrent un résultat quantitatif valable pour un dosage :

tri-n-butylamine	pyridine
di-n-butylamine	acridine
3-méthyl-pyridine	antipyrine.

Le tableau suivant illustre les résultats obtenus par les auteurs.

TEST DE SENSIBILITE

BASE ESSAYEE	Précipité visible pour des concentrations en mcg/ml de		
	P	As	Si
Di-n-Butylamine	1	0 pté	0 pté
Tri-n-Butylamine	0,5	5	5
Pyridine	1	0 pté	0 pté
α Picoline	0,25	5	5
β Picoline	0,25	5	5
Quinoléine	0,25	0,5	0,5
Acridine	0,5	5	5
Antipyrine	0,5	5	5

Les réactifs de molybdate de di-n-Butylamine et le molybdate d'acridine ne sont pas stables. Les auteurs ont sélectionné la base organique qui leur donnait le plus de satisfaction pour la détermination du phosphore : c'est α picoline.

L'adjonction d'acide citrique à la solution évite l'interférence de l'Arsenic : la quantité de 700 mg de cet acide empêche toute précipitation d'arsénio-molybdate d'α picoline.

Le réactif se prépare comme le molybdate de quinoléine en remplaçant les 28 ml de quinoléine par 32 ml de α picoline.

UTILISATION DE LA LUTIDINE 2-6

R.B. HESLOP et E.F. PEARSON (3) utilisèrent la lutidine 2-6 pour obtenir une précipitation sélective des complexes phosphatés et arséniés obtenus à diverses températures.

Réactifs :

Préparer le réactif de molybdate de lutidine 2-6 de la même façon que le réactif de molybdate de quinoléine ; remplacer les 28 ml de quinoléine par 36 ml de lutidine 2-6.

Technique :

Ajouter à température choisie, à une solution contenant 0,5 microcurie de radiophosphore ou de radioarsenic, 2 ml du réactif à la lutidine 2-6, filtrer si nécessaire et laver avec une solution d'acide chlorhydrique à 2 p.100 ; pratiquer un comptage sur le filtrat et sur le précipité.

Résultats :

Action de la température et du temps sur la précipitation du 2-6 lutidine Molybdo-PHOSPHATE :

Température de précipitation	Pourcentage P précipité en		
	10 mn	20 mn	30 mn
5	71	82,6	85,2
10	96,9	97,4	97,9
15	98,0	98,1	98,1
20	98,1	98,2	98,2
eb.	98,4	98,4	98,4

Action de la température et du temps sur la précipitation du 2-6 lutidine Molybdo-ARSENIATE :

Température de précipitation.	Pourcentage d'As précipité en 10 mn	20 mn	30 mn
5	0	0	0
10	0	1,2	3,7
15	0	2,5	6
20	6,2	-	-

Quand le molybdate de lutidine 2-6 (2 ml) est ajouté à un mélange contenant des quantités équimoléculaires de phosphates et d'arséniates, l'étude par ces traceurs montre, qu'à des températures comprises entre 10 et 15°, la quantité de phosphates précipités au bout de dix minutes est de 96 à 98 p.100 ; le précipité contenant moins de 0,05 p.100 d'Arsenic.

Observations :

Au dessus de la température de 15°C la proportion d'Arsenic précipité croît rapidement.

Le réactif à la lutidine 2-6 n'est pas aussi efficace que le réactif à la quinoléine, mais il sépare les arséniates et les phosphates.

Dans notre travail toxicologique, cette méthode peut nous permettre d'éliminer massivement 98 p.100 des phosphates du liquide de destruction.

D'après les tableaux précédents, la température de 15° et une durée de précipitation de 10 minutes seront les facteurs les plus favorables à notre travail.

On note que l'adjonction d'acide citrique contribue à maintenir en solution l'arsénio-molybdate de lutidine 2-6.

B - SEPARATION PAR SOLVANTS SELECTIFS

Principe :

L'expérience a montré que les divers complexes molybdiques silicatés, phosphatés, arséniatés pouvaient présenter des solubilités sélectives vis à vis de certains solvants organiques.

Plusieurs auteurs (5) ont mis à profit cette propriété pour tenter leur séparation.

Le dosage colorimétrique de chacun d'eux intervient alors directement soit sur l'extractif organique, soit sur la phase isolée.

On peut même, grâce à une agitation de l'extractif organique avec une solution alcaline, décomposer le complexe molybdique et récupérer dans une autre phase aqueuse les arséniates extraits, il y a donc bien isolement séparatif.

a) - Méthode de R.B. HESLOP et E.F. PEARSON (6)

Ces auteurs ont essayé plusieurs solvants organiques pour séparer les phosphates des arséniates sous forme de complexes molybdiques.

Technique :

Mélanger 10 ml d'acide nitrique N, 10 ml de solvant, 4 ml de réactif molybdique à 10 p.100, 2 ml de solution de NaH_2PO_4 ou de NaH_2AsO_4 (0,1 mg/ml).

Agiter une minute pour l'extraction, deux extractions suffisent.

Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau suivant.

Solvant	pH	M	p.100 PO_4^{3-} extrait	pH	p.100 AsO_4^{3-} extrait
n-Butanol (6 à 9)	x	1	99,9	1,0	24,7
isobutanol (10 - 11)	1,0	x	99,5	1,0	23,0
Isopentanol (12)	x	1	99,8	1,0	12,0
n-heptanol	x	1	99,5	1,0	2,0
n-propyl-acétate (13 - 14 - 15)	x	1	99,4	1,0	1,2
n-butyl-acétate (16 - 17)	x	1	99,0	1,0	0,5
cyclo-hexanone	4,0	x	99,3	2,0	97,9

Les solvants qui donnent le plus de satisfaction pour une extraction sélective des phosphates vis à vis des arséniates sont le n-butyl-acétate et n-heptanol.

Les expériences en vue de sélectionner ces derniers solvants ont été poursuivies.

Les résultats qu'ils ont obtenus sont mentionnés dans le tableau suivant :

Solvant	PO_4 présent ml	AsO_4 présent ml	Pourcentage en PO_4	Pourcentage en AsO_4
n-butyl-acétate	2	0	99,0	x
	2	0	99,8	x
	0	2	x	0,5
	0	2	x	1,1
	2	2	99,8	1,0
n-heptanol	2	0	99,8	x
	0	2	x	4,2

Conclusion :

Pour notre travail nous retiendrons deux solvants :

. le n-butyl-acétate : qui permet d'extraire le complexe phospho-molybdique sans extraire le complexe arsenio-molybdique.

. la cyclohexanone qui, à pH = 2, extrait une grande quantité d'Arsenic.

b) - Détermination colorimétrique de petites quantités de phosphore et d'arsenic par extractions fractionnées.

Nous décrirons rapidement le procédé mis au point par TOSHIYASU KIBA et MITSURURA (18). Ces auteurs extraient une quantité de phospho-molybdate inférieure à 20 mcg dans une solution contenant moins de 0,5 mg de Silicium et d'Arsenic.

Ils extraient le complexe phospho-molybdique par un mélange de deux parties d'alcool isobutylique et de trois parties de chloroforme puis ils mesurent l'extinction de la phase organique à 373 m_μ ; cette extinction est linéaire jusqu'à concentration maxima de 2 mcg de P.

Ils extraient ensuite, le complexe arsenio-molybdique en réacidifiant la phase aqueuse puis en l'agitant avec un solvant constitué d'un mélange d'acétate d'éthyl et de butanol (1-1). L'addition à ce solvant de chloroforme fait transférer le Silicium et le Germanium dans la phase aqueuse. Ils mesurent l'extinction de la phase organique à 372 m_μ . La loi de BEER se vérifie jusqu'à 2 mcg par ml.

c) - Méthode de dosage du Phosphore en présence d'Arsenic :

Mr Stanley CLABAUGH et Andrey JACKSON (19) exposent une méthode qui se rapporte à la détermination quantitative unitaire des phosphates, arséniates et silicates en solution mixte ; nous nous limiterons ici à citer la séparation phosphates-arséniates.

Principe :

La méthode est basée sur l'extraction sélective des complexes arsénio-molybdique et phospho-molybdique par la méthyl-isobutyl-cétone et l'éther éthylique ; pour obtenir une complète extraction du complexe arsenio-molybdique dans la méthyl-isobutyl-cétone la phase aqueuse doit être préalablement saturée en butanol.

Réactifs :

- Solution aqueuse de molybdate d'ammonium à 10 g/100 ml
- Solution de chlorure stanneux ACS ($SnCl_2$, $2H_2O$) à 2 g dans 100 ml de HCl pur,
- Solutions standards d'essai.

Technique :

A 80 ml de solution à étudier, ajouter 5 ml de réactif au molybdate d'ammonium ; ajuster le pH à 1,8 - 1,9 avec de l'acide chlorhydrique ; porter à l'ébullition commençante et diluer à 90 ml.

- Séparation des phosphates :

Transférer le mélange précédent dans une ampoule à décantation ; ajouter 10 ml de HCl concentré et 15 ml d'éther éthylique ; agiter ; recueillir la phase aqueuse et laver l'éther par deux fois avec 10 ml d'acide chlorhydrique au 1/10ème.

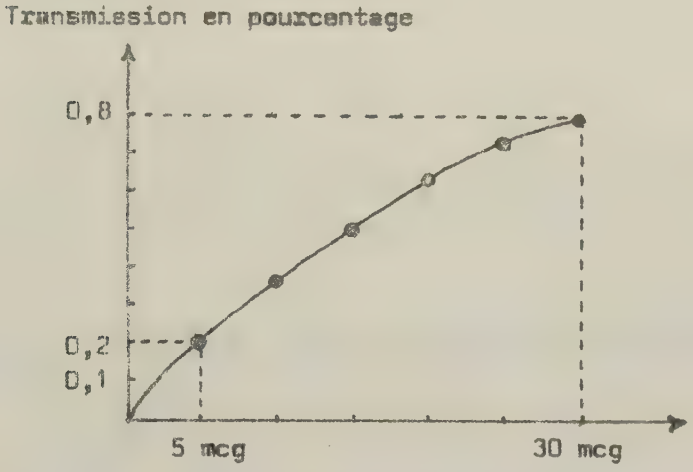
Recueillir quantitativement les phases aqueuses (voir dosage Arsenic). Ajouter 0,2 ml de réactif au $SnCl_2$ à la solution éthérée et agiter ; diluer à 25 ml la solution éthérée avec de l'éther. Doser les phosphates.

- Séparation de l'Arsenic :

Transférer dans une ampoule à décantation la solution aqueuse puis la saturer en butanol.

Ajouter 25 ml de méthyl-isobutyl cétone ; agiter et laisser les deux phases décanter. Recueillir la phase aqueuse (qui contient le Silicium) ; laver la solution cétonique par trois fois avec chaque fois 10 ml d'acide chlorhydrique dilué au 1/10ème ; éliminer les phases aqueuses. Si la solution cétonique est trouble, laver à l'acide chlorhydrique au 1/100ème.

Ajouter alors 0,2 ml de la solution de $SnCl_2$ dans 10 ml d'eau ; agiter avec la phase cétonique et rejeter l'eau. Compléter à 30 ml la phase cétonique et doser photocolorimétriquement.



mcg dans 30 ml de méthyl-isobutyl cétone.

Observations :

Cette méthode n'est utilisable qu'après avoir ramené le taux des phosphates à une valeur sensiblement égale à celle des arséniates.

C - METHODES CHIMIQUES PAR REDUCTIMETRIE

Toutes ces méthodes sont basées sur la différence qui existe entre la possible réductibilité des arséniates et la non réductibilité des phosphates.

Les arséniates peuvent être, en effet, aisément réduits à divers stades :

$$AsO_4^{3-} \longrightarrow AsO_3^{3-} \longrightarrow As^{\circ} \longrightarrow AsH_3$$

Nous mentionnerons dans ce travail, les méthodes de réduction des arséniates en arsénites, ions ayant, à l'opposé des phosphites, des propriétés caractéristiques des ions métalliques.

a) - Méthode de KLEIN et VORHES (20) modifiée par DREULLE (21)

Principe :

KLEIN et VORHES réduisent classiquement l'ion arséniate en ion arsénieux au moyen de l'iodure de potassium.

Cet ion arsénieux est alors extrait par le xanthate d'éthyle en solution dans le tétrachlorure de carbone. Après évaporation de la phase organique, ils oxydent le résidu par de l'eau de brome (récupération de l'As sous forme d'ion arséniate).

Après élimination de l'excès de brome ils pratiquent un dosage colorimétrique.

Réactifs :

. solution de bisulfite de potassium 5 p.100
. solution d'éthyl-xanthate de potassium à 0,5 p.100 dans le tétrachlorure.

- Réactif A : molybdate de NH_4 à 1 p.100 dans H_2SO_4 5N
- Réactif B : solution de sulfate d'hydrazine 1,5 g/litre.

Technique :

A 25 ml du liquide de destruction sulfurique à une concentration sulfurique de 10 p.100 contenant de 0 à 250 mcg As^{5+}, ajouter 5 ml d'une solution d'IK à 10 p.100 ; agiter et ajouter la solution de bisulfite jusqu'à neutralisation de l'iode formé.

Effectuer une extraction par 20 ml de solution d'éthylxanthate puis à nouveau avec 10 ml ; laver ces extractifs par H_2SO_4 au 1/200ème ; évaporer le tétrachlorure.

Ajouter au résidu 15 ml d'eau de brome puis chasser l'excès de brome par ébullition.

Amener finalement le volume à la mesure désirée puis effectuer un dosage colorimétrique à 635 mμ en ajoutant 5 ml de réactif A pour un volume de 75 ml et 5 ml de réactif B.

Remarques :

L'acidité de 10 p.100 en H_2SO_4 est la meilleure car si on dépasse 50 p.100 la viscosité devient trop importante ; de plus à partir de 20 p.100 on peut observer un précipité d'iodure d'Arsenic.

Avantages et inconvénients :

Les inconvénients sont d'ordre pratique :

. d'abord l'évaporation du tétrachlorure de carbone est longue,

. le xanthate du commerce n'est pas suffisamment pur pour l'analyse ; il doit être préparé à partir d'alcool absolu, de soude et de sulfure de carbone.

b) - Méthode d'Elisabeth et Jean MIGEON (22)

Principe :

Les auteurs réduisent l'arséniate par le chlorure de titane.

Ils forment ensuite en milieu très acide de l'iodure d'Arsenic trivalent qu'ils extraient par le chloroforme.

Finalement ils réoxydent l'ion arsénieux en ion arsénique par le sulfate cerrique.

Ils dosent les arséniates par colorimétrie.

Observations des auteurs :

1° - Réduction : les auteurs ont montré que la réduction

- par le sulfate d'hydrazine en milieu acide est difficile,
- par le chlorhydrate d'hydroxylamine n'est pas totale,
- par le chlorure stanneux et le chlorure de titane est satisfaisante au point de vue quantitatif.

Les auteurs ont opté pour le chlorure de titane.

2° - Extraction : l'extraction du triodure d'Arsenic en milieu chloroformique demande des opérations renouvelées ; ils ont choisi ce solvant malgré cet inconvénient.

3° - Réoxydation : pour passer de la solution chloroformique d'iodure d'Arsenic trivalent à une solution d'Arsenic pentavalent, les expérimentateurs préfèrent l'ion cerrique en milieu acide à l'oxydation iodée en milieu alcalin.

As^{5+}/As^{3+} Eo = 1 V à pH = 0

Ce^{4+}/Ce^{3+} Eo = 1,44 V en milieu sulfurique 0,5 N.

Cet ion cerrique sera sans influence pour les opérations ultérieures.

Interférences :

Parmi tous les éléments susceptibles de former un composé molybdique réductible (As, Ge, Si, P) seuls le Germanium et l'Arsenic peuvent se trouver à l'état d'halogénure en milieu aqueux. Le sel de Germanium n'est pas extractible par le chloroforme, le dosage est ainsi spécifique de l'Arsenic.

Réactifs :

- Trichlorure de titane (ampoule 35 g/100 cm3 HCl 12N)
- Solution de sulfate cerrique à 0,95 g/litre dans H_2SO_4 20 N.
- Solution de sulfate d'hydrazine à 1,5 g/litre.
- Solution de molybdate de NH_4:1 g dans H_2SO_4 0,5 N.

Technique :

Evaporer le liquide de destruction au bain de sable jusqu'à fumées blanches persistantes, reprendre par 5 ml d'eau et 5 ml d'HCl concentré, redissoudre à chaud tous les sulfates, réduire l'ion arsenique par addition de 1 ml de solution de $TiCl_3$ et ajouter 2 ml de solution de IK à 40 p. 100.

Transvaser dans une ampoule à décanter en rinçant le bécher avec 35 ml d'HCl concentré, le milieu chlorhydrique doit être de 10 à 11 N pour l'extraction : le triodure d'As précipite.

Ajouter 25 ml de chloroforme, agiter une minute et recueillir la phase chloroformique dans une seconde ampoule, y ajouter 15 ml d'eau qui solubilise le triodure d'Arsenic ; laisser décanter et rejeter la phase chloroformique.

Rincer l'ampoule avec 5 ml d'eau distillée ; ajouter 1 ml de solution de sulfate cerrique et porter 10 minutes environ au bain-marie à 90°, refroidir. Ajouter alors 1 ml de sulfate d'hydrazine et 0,5 ml de réactif au molybdate d'ammonium. Lire la coloration à 840 mμ .

c) - Séparation des arséniates par réduction en arsénites

J.E. PORTMAN et J.P. RILEY (24) ont proposé de doser l'Arsenic dans l'eau de mer.

Principe :

Après avoir réduit les arséniates en arsénites, ils forment avec ce dernier une combinaison insoluble avec la Thionalide ; cette combinaison recueillie, est détruite par l'acide nitrique concentré et l'arséniate régénéré est dosé par colorimétrie.

L'opération comprend plusieurs temps :

1° - Réduction à l'état d'arsénite ; les auteurs montrent que l'acide ascorbique en milieu neutre est, dans ces conditions, le meilleur réducteur.

2° - Isolement de l'Arsenic III en milieu acide : il est réalisé par la thionalide en solution dans l'acétone ; il se forme un précipité cristallin. On chasse à chaud l'acétone pour récupérer la totalité du complexe. Le précipité gélatineux est recueilli sur filtre ; le précipité et le filtre sont minéralisés grâce à l'acide nitrique concentré ; l'Arsenic trivalent est ainsi transformé en arsenic pentavalent.

3° - Dosage : le résidu sec de la destruction est repris en milieu aqueux acide et les arséniates sont dosés colorimétriquement.

Réactifs :

- Solution aqueuse d'acide ascorbique à 5 g p.100 ml,
- Solution aqueuse d'acide ascorbique 0,1 M,
- Solution de thionalide dans l'acétone 2 g p.100 ml,

(Ces trois solutions doivent être préparées extemporanément).

- Solution de molybdate d'ammonium 4,8 g p.100 ml,
- Solution aqueuse de tartrate antimonio-potassique 0,274 g p.100 ml,

En vue de la réaction colorimétrique préparer le réactif suivant qui devra être réalisé dans l'heure.

- H_2SO_4 5N	50 ml
- Solution de molybdate	15 ml
- Solution de tartrate antimonio-potassique.	5 ml
- Solution 0,1 N d'acide ascorbique	30 ml

Technique opératoire :

Prendre deux litres d'eau de mer neutralisée, y ajouter 4 ml de solution à 5 p.100 d'acide ascorbique ; porter à ébullition dans un erlenmeyer obturé par un verre de montre et placé sur une plaque chauffante. Abandonner au refroidissement spontané durant 10 mn, ajouter à nouveau 2 ml de la solution

d'acide ascorbique à 5 p.100, laisser refroidir à la température ambiante : l'Arsenic V est alors intégralement réduit en Arsenic III.

Ajouter, en agitant, de l'acide sulfurique 5 N (de façon à obtenir une solution 0,4 N au moins), puis 7 ml de la solution de thionalide ; soumettre à l'agitateur durant 10 minutes ; abandonner 10 mn.

Porter à l'ébullition sur plaque chauffante durant 30 minutes pour éliminer l'acétone résiduelle ; poursuivre l'agglomération du précipité par agitation magnétique après refroidissement ; attendre 12 heures ; filtrer sous faible aspiration sur papier Whatman 541 de 4,25 cm de diamètre ; laver le précipité à l'eau distillée.

Placer le filtre et le précipité dans un erlenmeyer à rodage émeri de 25 ml ; ajouter 7,5 ml d'acide nitrique concentré, obturer le flacon et chauffer doucement 24 ou 36 heures jusqu'à ce que la solution soit devenue jaune pâle.

Enlever le bouchon et le rincer avec un peu d'eau ; évaporer l'acide nitrique sur une plaque suffisamment chaude jusqu'à consistance huileuse ; continuer à chauffer lentement en évitant toute carbonisation, sous courant de CO_2, pour éliminer l'acide nitrique résiduel qui interfère avec les arséniates dans la détermination spectrophotométrique finale ; refroidir : le résidu devra être un solide jaune pâle.

Ajouter 1 ml d'acide sulfurique (N) et chauffer doucement jusqu'à dissolution du précipité.

Transférer quantitativement dans une fiole de 10 ml, ajouter 2 ml de réactif et diluer à 10 ml, pratiquer la mesure photométrique avant 30 minutes.

Résultats :

As présent en mcg	2,0	4,0	5,0	6,0	8,0
As trouvé en mcg	1,9	4,2	4,7	4,9	8,2

D - DOSAGE COLORIMETRIQUE

Nous distinguerons deux types de dosages :

a) Dosage de l'ion arsénique sous forme de complexes molybdiques :

Ces dosages ne peuvent être pratiqués qu'après séparation des phosphates. Suivant la dose d'arséniates à rechercher nous considèrerons :

1° - Les dosages colorimétriques du complexe molybdique non réduit ; ces méthodes ne sont à employer que pour de fortes teneurs en arséniates (de 3 mcg à 15 mcg par ml). Ces complexes sont incolores (UV) ou jaunes.

2° - Les dosages colorimétriques après réduction du complexe molybdique (coloration bleue) ; ces techniques sont applicables en toxicologie vue leur sensibilité (jusqu'à 0,1 mcg d'As par ml).

b) Dosage de l'ion arsénieux en présence ou non de l'ion phosphate.

L'ion arsénieux, forme avec le diéthyl-di-thio-carbamate de sodium en solution dans un solvant organique, un complexe absorbant dans l'U.V. ; la sensibilité de ce dosage est de 1 à 20 mcg d'As/ml.

A - DOSAGE A BASE DE COMPLEXES MOLYBDIQUES (AsO_4^{3-})

I - Dosages colorimétriques sans réduction du complexe arsénio-molybdique :

1°) - Méthode de M.A. DE SESA et L.B. ROGERS (15) :

Réactif :

- Solution d'anhydride molybdique MoO_3,
- Complexe formé : l'acide molybdo-arsénique, $(H_7 (As(Mo_2O_7)_6)$; $(As_2O_5(MoO_3)_{24}$, $7 H_2O)$ ou $AsMo_{12}O_{40}H_3)$
- Solvant d'extraction : acétate d'isoamyle,
- Coefficient d'extinction : 330 mμ = 14×10^3,

La loi de BEER est vérifiée pour 330 mμ (λ optimum) de 3 mcg à 15 mcg par ml, la droite d'étalonnage ne passe pas par l'origine mais coupe l'axe des extinctions pour une concentration de 1,5 mcg/ml.

Technique :

A une partie aliquote de la solution, ajouter un volume de solution correspondant à 40 mg de MoO_3, 2 ml d'$HClO_4$ à 60 % et compléter à 100 ml.

Prélever 20 ml du mélange et l'extraire avec 20 ml d'acétate d'isoamyle ; agiter durant 2 mn ; la phase aqueuse doit contenir de 16 à 17,5 p.100 d'alcool éthylique.

Interférence :

SiO_2 ne gêne pas, l'ion phosphorique interfère.

2° - Méthode de D.K. GULLSTROM et M.G. MELLON (25) au complexe Vanado-molybdique.

Les auteurs forment un acide molybdo-vanado-arsénique et mesurent l'adsorption de ce complexe entre 380 et 460 mμ .

L'intervalle de validité s'étend de 1 à 30 mcg par ml.

Réactif :

Dissoudre 25 g de molybdate sodique dans 70 ml d'eau. Dissoudre 3,75 g de métavanadate sodique dans une solution de soude diluée ; neutraliser avec HCl, refroidir et diluer à 250 ml (conserver dans un flacon de matière plastique). Mélanger les deux solutions.

Technique :

Ajouter 5 ml de réactif à 45 ml de la solution échantillon neutre à doser. Pratiquer le dosage photocolorimétrique.

Interférences :

Bi^{3+} - Pb^{2+} - Th^{4+} - Zr^{4+} - Ag^{+} - BO_2^{-} - SCN^{-} - Fe^{3+} - $Cr_2O_7^{2-}$ - I^{-} - PO_4^{3-} - SiO_4^{3-}.

II - Dosage colorimétrique après réduction du complexe molybdique :

1°) - Méthode de WYATT (26) :

Principe :

Dans une solution fortement diluée et acide contenant : phosphates, arséniates, ou silicates, les molybdates réduits donnent une coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle à la concentration de chacun d'eux.

Les anions, dans ces conditions, facilitent la réduction du molybdène VI en molybdène V.

Ces acides molybdiques complexes ainsi réduits présentent une très grande stabilité par rapport au bleu de molybdène (V).

Réactifs :

Dissoudre 17,5 g de molybdate d'ammonium dans 250 ml d'acide sulfurique 10 N, filtrer, laver. Dissoudre le précipité dans 250 ml de $HClO_4$ (4N), compléter à 1 litre avec q.s. d'eau distillée.

Technique :

A v ml de solution arsenicale, ajouter 2,0 ml de réactif molybdique et évaporer jusqu'à dégagement de fumées, chauffer au réfrigérant ascendant pendant 10 mn. Ajouter 15 ml d'eau,

faire bouillir une heure et refroidir. Transférer dans un ballon jaugé de 25 ml et compléter au volume. Ajouter 5 ml d'une solution aqueuse de sulfate d'hydrazine à 0,03 g p.100 ml, obturer le ballon et chauffer au bain-marie pendant 15 mn. Mesurer l'absorption à 840 mμ .

Pour tracer la courbe étalon, prendre des quantités aliquotes de solutions étalons d'As, ajouter 1,5 ml de H_2SO_4 10 N et 2ml de la solution de Molybdate.

Evaporer jusqu'à dégagement de fumées et continuer comme précédemment décrit; la coloration est stable 24 heures.

2°) - Méthode de CASTAGNOU, J. FAURE et M. SYLVESTRE (27 - 28 - 29).

Principe :

Les auteurs ont adopté la technique céruléo-molybdique de DENIGES. Afin d'éviter le jaunissement de la teinte bleue du complexe arsénio-molybdique, les auteurs proposent une concentration de la coloration bleue dans l'alcool amylique.

Réactifs :

. Réactif sulfomolybdique de DENIGES : Dissoudre 10 g de molybdate d'ammonium à chaud dans 100 ml d'eau distillée, refroidir et ajouter 100 ml d'acide sulfurique. On emploie la dilution aqueuse au quart de ce réactif.

. Réactif au chlorure stanneux de FONTAINE : à 10 g de $SnCl_2$, $2H_2O$ dans 25 ml d'acide chlorhydrique pur.

Cette solution mère est à conserver sous toluène. Au moment de l'emploi on pratique une dilution au 1/25e dans l'acide chlorhydrique pur que l'on dilue à son tour au 1/5e dans de l'eau distillée. Cette dernière solution doit être utilisée extemporanément.

Technique :

Dans un tube à essai de 20 ml à bouchon rodé, introduire successivement et dans l'ordre : 0,4 ml de réactif sulfomolybdique, 10 ml de solution arsenicale, 5 ml d'alcool amylique

et 10 ml de réactif au chlorure stanneux dilué.

Agiter par simple retournement du tube bouché, la teinte bleue atteint son maximum d'intensité au bout de 10 mn.

Extraire par agitation durant 2 mn, centrifuger et recueillir la phase supérieure amylique ; lire à 730 mμ .

Résultats :

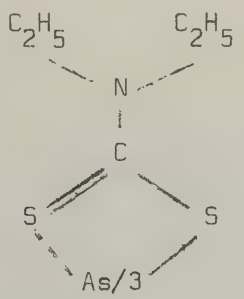
La coloration est lisible de 0,05 à 1,5 mcg par ml.

N.B. - La réaction est également utilisable pour le dosage des phosphates. Le rapport des poids atomiques As/P étant égal à 2,4 , la sensibilité de la réaction dans le sens du dosage des phosphates est multipliée par ce coefficient.

B - DOSAGE DE L'ARSENIC PAR L'INTERMEDIAIRE DU CATION ARSENIC TRIVALENT (30)

Principe :

On mesure l'absorption du complexe formé par le cation arsenic III et le diéthyl-di-thio-carbamate sodique en solution dans le tétrachlorure de carbone. Cette méthode a pour avantage sa spécificité ; les phosphates et les silicates n'interfèrent pas.



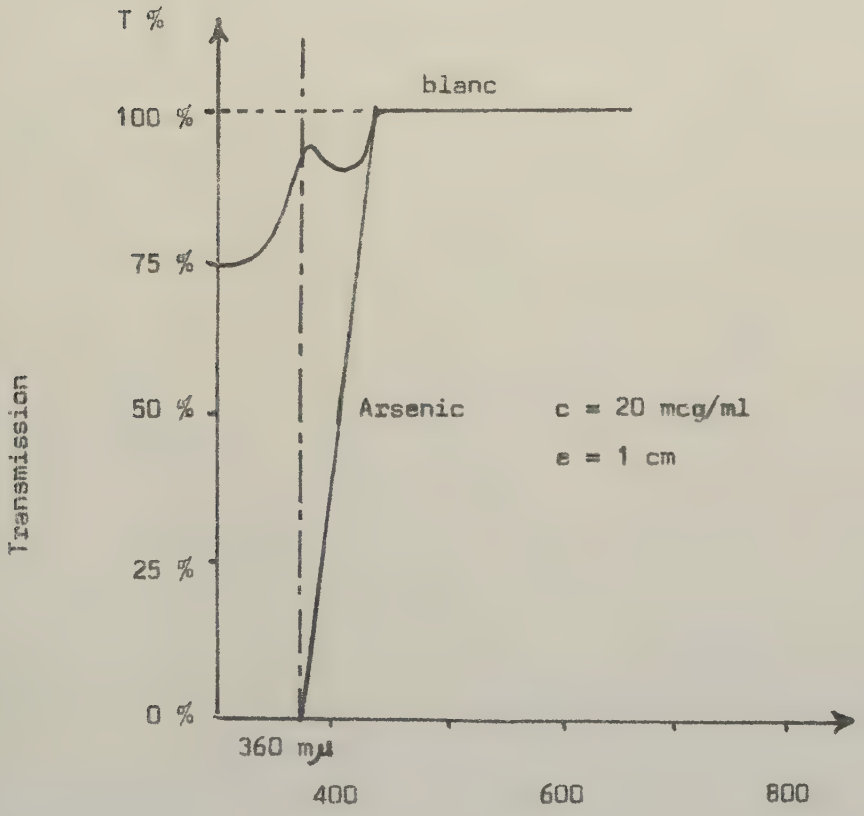
Réactifs :

Solution aqueuse de diéthyl-di-thio-carbamate sodique à 2 g p.100 ml.

Solvant : CCl_4 (on peut aussi utiliser : benzène, xylène, toluène et chloroforme, mais les extinctions sont plus faibles).

Coefficient d'extinction : à 360 mμ = 3,6 x 10^3 correction de blanc effectuée.

Courbe de Transmission :

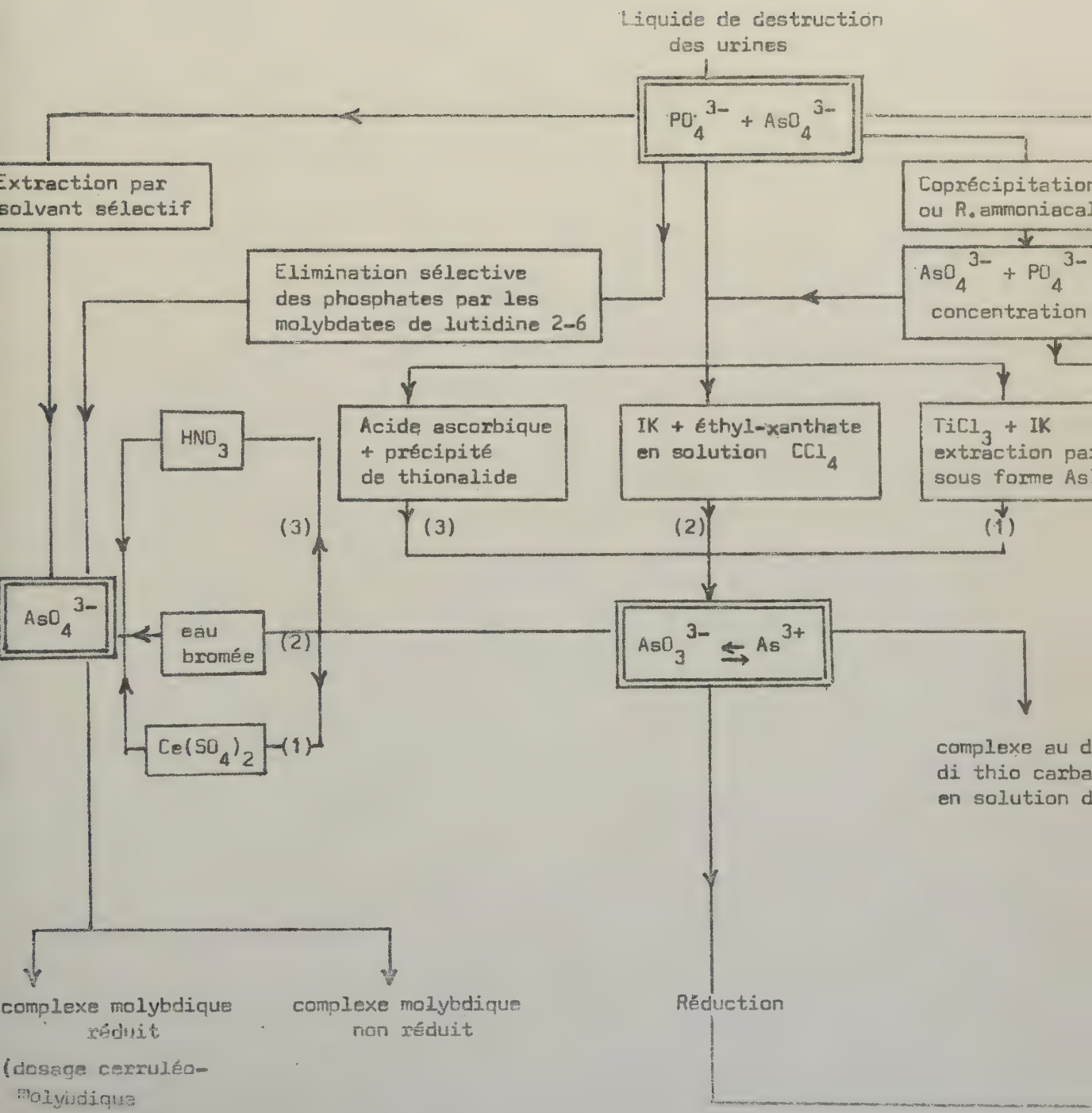


Du fait du graphique précédent, on choisit donc pour mesurer l'absorption, la longueur d'onde pour laquelle le blanc absorbe le moins et la solution arsénicale absorbe le plus soit : 360 mμ.

Technique :

Prendre 1 ml de solution standard As (20 mg/l), ajouter 10 ml d'une solution tampon à pH 5 puis 2 ml de solution de D.D.C. à 2 p.100. Verser dans une ampoule à décantation, ajouter 5 ml de CCl_4 et agiter durant une minute, séparer et lire l'absorption sur la phase organique à 360 mμ .

Nous avons résumé la bibliographie dans le tableau de la page suivante.


Liquide de destruction des urines
PO_4^{3-} + AsO_4^{3-}
Extraction par solvant sélectif
Elimination sélective des phosphates par les molybdates de lutidine 2-6
Coprécipitation ou R. ammoniacal
AsO_4^{3-} + PO_4^{3-} concentration
HNO_3
Acide ascorbique + précipité de thionalide
IK + éthyl-xanthate en solution CCl_4
$TiCl_3$ + IK extraction pa sous forme As
(3)
(3)
(2)
(1)
AsO_4^{3-}
eau bromée
(2)
$AsO_3^{3-} \rightleftharpoons As^{3+}$
$Ce(SO_4)_2$
(1)
complexe au d di thio carba en solution d
complexe molybdique réduit
(dosage cerruléo-Molybdique
complexe molybdique non réduit
Réduction

D E U X I E M E P A R T I E

****

CHAPITRE PREMIER

***

I - PERFECTIONNEMENT DU DOSAGE COLORIMETRIQUE DE L'ARSENIC APRES EXTRACTION DU COMPLEXE CERRULEO - MOLYBDIQUE

Nous avons essayé d'amener quelques perfectionnements à la méthode de CASTAGNOU et SYLVESTRE décrite précédemment.

Dans cette méthode l'extraction du complexe arsénio-molybdique bleu réduit n'est pas complète soit du fait de la légère solubilité de l'alcool amylique dans l'eau, soit du fait du coefficient de partage.

Nous avons cherché à parfaire l'extraction de ce complexe et à sensibiliser la réaction en utilisant les solvants sélectionnés d'après les résultats obtenus par HESLOP et PEARSON (5), CLABAUGH et JACKSON (19) : la cyclohexanone d'une part et la méthyl-isobutyl-cétone d'autre part.

Technique :

La technique suivie est strictement identique à celle mentionnée à la page (28-29) ; seule la nature et la quantité du solvant changent. Toutes les mesures sont faites dans des cuves de 1 cm d'épaisseur.

1°) - Essai à la cyclohexanone :

Il convient, à propos de la cyclohexanone, de préciser tout de suite un point important : l'expérience nous a montré que, si on agite la solution avec le solvant avant la réduction dans la cyclohexanone, cette phase organique prend une coloration bleue intense, correspondant à la formation de bleu de molybdène, non proportionnelle à la concentration des arséniates présents dans la solution.

Si l'extraction du complexe arsénio-molybdique est effectuée, normalement, après l'addition du réducteur, la cyclohexanone extrait totalement le complexe et renforce la coloration bleue.

Nous avons essayé différents volumes de solvant et nous avons mesuré la coloration à 622 mμ .

Les résultats que nous avons obtenus, exprimés en D.O. sont mentionnés dans le tableau suivant. L'extraction fut réalisée avec 5 ou 3 ml de solvant.

Tableau de densité optique (courbe voir p.40)

Volume d'extraction		As en mcg/ml 0,1	0,2	0,5	1	pente en D.O./mcg/ml
5 ml	Blanc	3	6,5	15,5	31	30
3 ml	Blanc	7	15	30	58	60

NOTA : Pour exprimer mathématiquement la sensibilité de la réaction, nous l'exprimerons sous forme de pente de la droite représentative de l'absorption D = F (c).

Cette pente est définie par le rapport suivant :

$$p = \frac{D_2 - D_1}{C_2 - C_1}$$ exprimée en D/C

D_1 et D_2 représentent les densités optiques de deux points de la courbe arbitrairement choisis et C_1 et C_2 les concentrations en mcg/ml d'Arsenic des points correspondant à D_1 et D_2.

La valeur de cette pente est donc égale à la densité optique de 1 mcg d'Arsenic par ml. On conçoit que la sensibilité est, de ce fait, proportionnelle dans une certaine échelle (celle de nos conditions opératoires) aux valeurs des pentes mesurées. Ceci nous permet ipso-facto de comparer mathématiquement les résultats obtenus dans différentes conditions opératoires et, ainsi, de définir celles qui sont les plus sensibles.

Observations :

De ce qui précède nous pouvons formuler les observations suivantes :

- Avec 5 ml de cyclohexanone, la pente de la droite est légèrement plus élevée que celle obtenue avec l'alcool amylique (30 contre 28).

- Avec 3 ml de cyclohexanone, la pente a, dans ce cas, doublé de valeur, l'augmentation est donc légèrement plus importante que celle du rapport des volumes des solvants (5/3) (60 contre 30 soit 100 p.100 contre 66 p.100 théorique).

2°) - Essai à la méthyl-isobutyl-cétone :

Il est important, à l'inverse du cas précédent, de mettre en contact par retournement, la solution arsénicale et le réactif molybdique avant l'adjonction du réducteur surtout pour les petites doses.

L'expérience fut réalisée selon le même protocole mentionné antérieurement avec des volumes de solvants de, 4 et 2 ml.

Les résultats obtenus (en D.O.) sont mentionnés dans le tableau suivant.

Volumes d'extraction	mcg As par ml								Pente
	0	0,01	0,02	0,05	0,1	0,2	0,5	1,0	
5 ml D.O.	Blanc	-	-	2,5	4,5	9	23	45	45
4 ml D.O.	Blanc	-	2,5	5	9,5	17,5	35	-	95
2 ml D.O.	Blanc	1,5	3	7,5	16	31	63	-	160

Observations :

Des résultats obtenus nous pouvons formuler les observations suivantes :

- Avec 5 ml de méthyl-isobutyl-cétone on constate une augmentation certaine de la pente par rapport au solvant étudié précédemment donc à l'alcool amylique (les pentes sont respectivement de 45, 30 et 18).

- Avec 4 ml l'amélioration par rapport à la courbe précédente est encore plus importante et on peut noter que cette échelle sera idéale pour les doses toxicologiques qui nous intéressent. La pente est de 95 contre 45 précédemment.

- Avec 2 ml de solvant, cette méthode est excessivement sensible et applicable aux petites doses d'Arsenic puisque l'on peut doser 0,01 mcg/ml ; en effet la pente est ici de 160 contre 45 avec 5 ml de solvant. Les résultats sont reproductifs mais la précision est limitée par la pureté des réactifs en PO_4^{3-} (0,004 mcg/ml de P).

Il est à noter que la sensibilité du dosage n'est pas sous l'unique dépendance de la concentration physique de la teinte dans le volume du solvant.

Les courbes suivantes, construites à partir des résultats mentionnés dans les tableaux précédents illustrent les observations sus-citées.

Observations :

Des résultats obtenus nous pouvons formuler les observations suivantes :

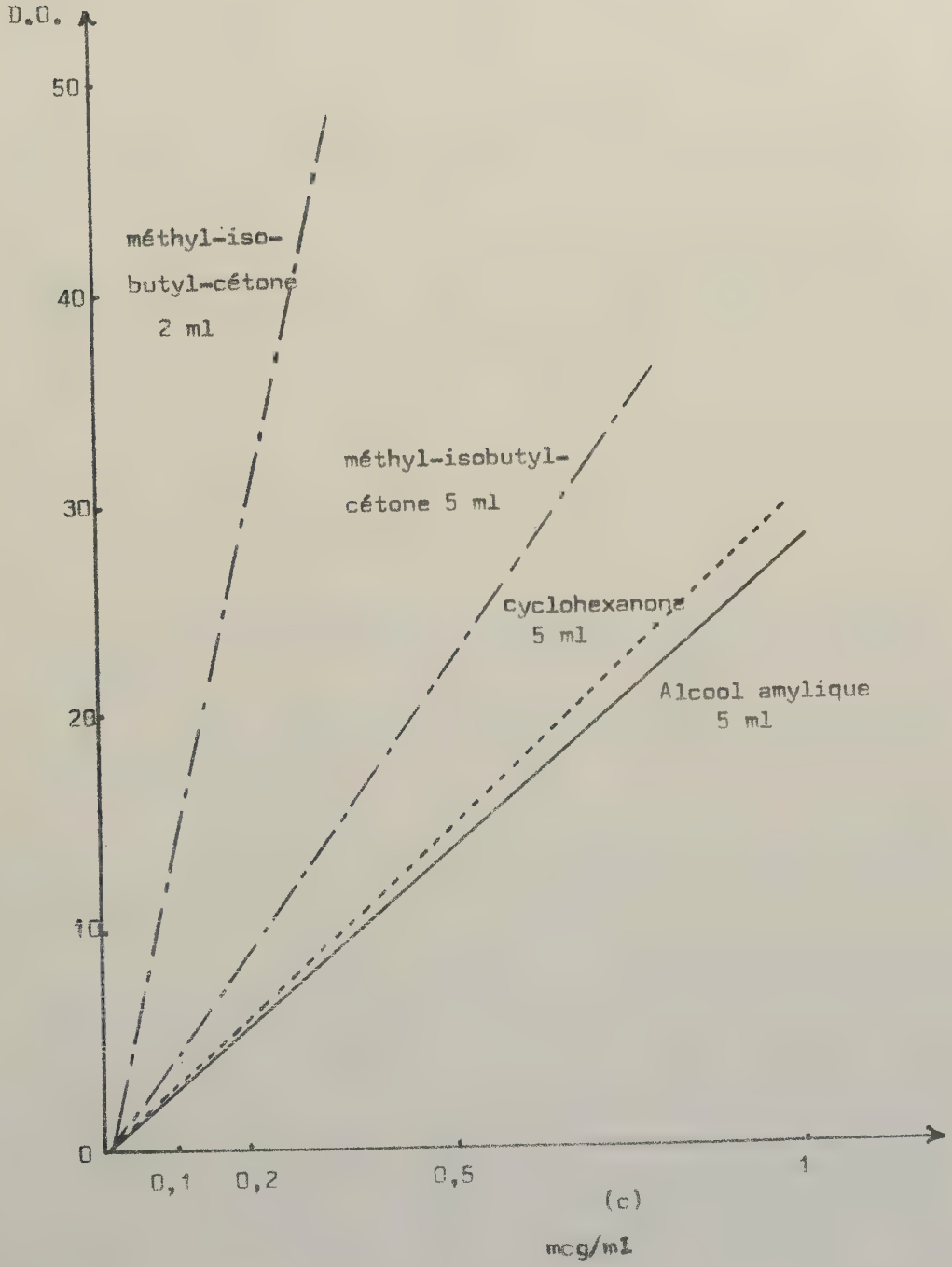
- Avec 5 ml de méthyl-isobutyl-cétone on constate une augmentation certaine de la pente par rapport au solvant étudié précédemment donc à l'alcool amylique (les pentes sont respectivement de 45, 30 et 18).

- Avec 4 ml l'amélioration par rapport à la courbe précédente est encore plus importante et on peut noter que cette échelle sera idéale pour les doses toxicologiques qui nous intéressent. La pente est de 95 contre 45 précédemment.

- Avec 2 ml de solvant, cette méthode est excessivement sensible et applicable aux petites doses d'Arsenic puisque l'on peut doser 0,01 mcg/ml ; en effet la pente est ici de 160 contre 45 avec 5 ml de solvant. Les résultats sont reproductifs mais la précision est limitée par la pureté des réactifs en PO_4^{3-} (0,004 mcg/ml de P).

Il est à noter que la sensibilité du dosage n'est pas sous l'unique dépendance de la concentration physique de la teinte dans le volume du solvant.

Les courbes suivantes, construites à partir des résultats mentionnés dans les tableaux précédents illustrent les observations sus-citées.


D.O.
50
40
30
20
10
0
méthyl-iso-
butyl-cétone
2 ml
méthyl-isobutyl-
cétone 5 ml
cyclohexanone
5 ml
Alcool amylique
5 ml
0,1
0,2
0,5
1
(c)
mcg/ml

RESTRICTION ET LIMITE DE CES METHODES

Devant ces excellents résultats nous avons réalisé directement ces réactions colorimétriques sur un liquide de destruction artificiel exempt de phosphate. L'acidité importante fut préalablement neutralisée par l'ammoniaque supra pur Merck.

L'expérience nous a montré une inconstance dans les résultats obtenus. Si la coloration normale est effectivement obtenue dans la phase aqueuse, nous avons été, dans de multiples circonstances, dans l'impossibilité d'extraire complètement la coloration de la phase organique.

Nous avons pensé à incriminer la forte concentration en sulfate d'ammonium dans la prise d'essai neutralisée. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons donc essayé de doser 10 mcg d'As en solution aqueuse pure et neutre en présence d'une quantité de 0,75 g dans 10 ml de divers électrolytes.

Nous avons successivement pris :

. 0,75 g de sulfate d'ammonium,
. 0,75 g de sulfate di-sodique,
. 0,75 g de chlorure d'ammonium.

Dans les trois cas, nous avons constaté une rétention de l'acide arsénio-molybdique réduit dans la phase aqueuse rendant impossible tout dosage sur la phase organique.

Cette impossibilité n'est donc pas liée à un ion déterminé, nous la reporterons à la présence d'une concentration importante en électrolytes.

On peut donc dire que la présence d'une trop forte concentration d'électrolytes perturbe le passage de l'acide arsénio-molybdique réduit dans la phase organique.

Pour effectuer un dosage toxicologique dans les conditions antérieurement précitées, il faudra donc opérer sur un liquide de destruction très peu concentré en sels minéraux donc très pauvre en acide sulfurique d'où la nécessité de l'isolement préalable de l'Arsenic en milieu aqueux au minimum d'acidité. Or, on ne peut rationnaliser une destruction nitrosulfurique ; en effet la consommation de cet acide varie avec le chauffage, la ventilation, la nature du composé à détruire. Nous avons donc abandonné momentanément ces méthodes par extraction chaque fois que nous avons travaillé sur un liquide de destruction final très acide.

II - DOSAGE COLORIMETRIQUE DIRECT DE L'ARSENIC EN PHASE AQUEUSE

Principe :

Dans les essais correspondants à ce paragraphe nous avons pratiqué directement sur des liquides de destruction artificiels neutralisés, exempts de phosphates, la réaction molybdique ; le complexe n'est pas extrait mais le milieu réactionnel est protégé de toute oxydation par l'air ambiant en recouvrant la phase aqueuse d'un solvant organique de densité plus faible qui n'extrait pas le complexe arsénio-molybdique réduit, nous avons choisi pour cela le n-butyl-acétate d'après les résultats de HESLOP et PEARSON (5).

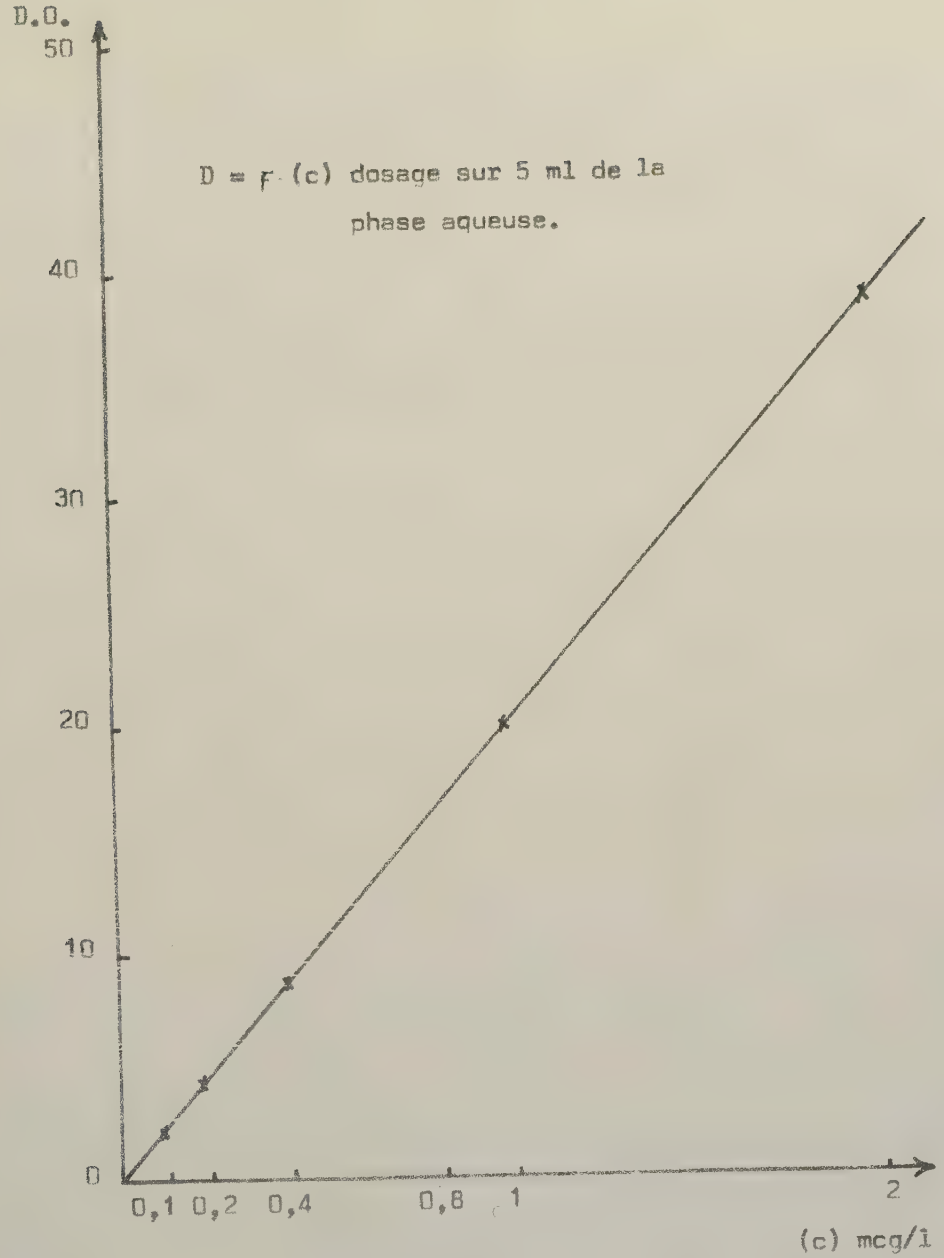
Réactifs : identiques à ceux de la première partie.

Technique :

Compléter le liquide de destruction neutralisé à 10 ml. Dans un tube à essai à bouchon rodé ; ajouter 0,3 ml de réactif molybdique, 5 ml du L.D. : agiter. Recouvrir cette solution de n-butyl-acétate ; la solution aqueuse étant ainsi isolée de l'air, ajouter 0,5 ml de solution au $SnCl_2$ dilué ; agiter et attendre 10 mn. Lire à 720 mμ en fonction du temps.

Les résultats obtenus exprimés en D.O. sont mentionnés dans le tableau suivant.

Temps de lecture		As en mcg/ml					pente :
		0,1	0,2	0,4	1	2	
10 mn	Blanc	2	4	8	20	38	20 D.O./mcg/ml
15 mn		2	4	8	20,5	38	
20 mn		2	3,5	7,5	20	37,5	



D = f (c) dosage sur 5 ml de la phase aqueuse.

Les résultats obtenus montrent qu'il faut effectuer, la lecture, au maximum, quinze minutes après la réaction.

La phase aqueuse est limpide et ne nécessite pas de centrifugation avant la mesure.

La comparaison de la pente avec celles obtenues précédemment montre que cette technique n'apporte pas, par elle-même, une amélioration de la sensibilité mais qu'elle a l'avantage d'éviter une extraction sujette à inconstance.

*
* *

III - CONCLUSIONS

Des résultats obtenus nous tirons les conclusions suivantes :

1° - En ce qui concerne l'extraction du complexe arsenio-molybdique réduit au moyen de solvants non miscibles, la méthyl-iso-butyl-cétone accroît consédérablement la sensibilité de la réaction puisque dans certaines conditions opératoires que nous avons précisées, elle permet de descendre à un centième de microgramme d'Arsenic par millilitre.

La possibilité d'extraction totale est liée à la concentration en électrolytes du milieu réactionnel aqueux.

L'importance de cette concentration laisse donc présager une grande difficulté d'extraction totale des complexes molybdiques lors des tentatives de séparation des phosphates et des arséniates par solvants sélectifs sur les vrais liquides de destruction. Ces inconvénients n'ont pas été constatés par les auteurs antérieurement cités, auxquels, en particulier, nous avons emprunté les solvants puisqu'ils utilisaient des solutions pures.

Pour rendre totales ces extractions, il serait nécessaire de diluer le L.D. préalablement neutre pour éliminer l'influence des électrolytes cela aux dépens de la sensibilité or c'est le maximum de sensibilité que nous recherchons.

Du point de vue pratique, et en conclusion des travaux précédents, les résultats que nous avons obtenus ne peuvent être appliqués qu'à des solutions pures d'ions arséniques très diluées en électrolytes.

Les deux techniques que nous avons retenues sont les suivantes :

1°) - Technique sans extraction, elle est mentionnée page (42)
2°) - Technique après extraction, nous la résumerons ci-dessous.

Réactifs : identiques à ceux de la méthode page 29

Technique :

Dans un tube à essai de 20 ml possédant un bouchon rodé, verser 0,4 ml de réactif molybdique, 10 ml de solution arsenicale, 4 ml de méthyl-isobutyl-cétone ; agiter par simple retournement.

Ajouter 1 ml de solution diluée de chlorure stanneux ; retourner le tube.

Attendre dix minutes puis agiter pour extraire, centrifuger.

Mesurer sur la phase organique l'extinction à 720 m μ comparativement à une gamme étalon.

*
* *

CHAPITRE DEUXIEME

***

METHODE D'ISOLEMENT AU DIETHYL-DI-THIO-CARBAMATE

HISTORIQUE :

Nous nous sommes inspiré de la méthode que LUKE et CAMPBELL préconisèrent pour le dosage de l'Arsenic dans le Germanium. Nous en exposerons préalablement les grandes lignes.

1° - LUKE et CAMPBELL ont modifié la méthode de PAYNE (31) qui solubilise préalablement l'échantillon de Germanium dans un mélange d'acide oxalique et de sel d'ammonium. L'Arsenic pentavalent, réduit en Arsenic trivalent par l'iodure de potassium, est extrait par le diéthyl-di-thio-carbamate d'ammonium en milieu très acide. Après réoxydation en milieu sulfurique et perchlorique de l'arsenic extrait et chauffage jusqu'à fumées blanches, l'ion arséniate formé, réduit électrolytiquement en AsH_3 est dosé par la méthode classique au papier au $HgCl_2$ avec révélation au $AgNO_3$.

2° - FOWLER (32) modifie cette technique en remplaçant, au cours du dosage de AsH_3, le papier au chlorure mercurique par une solution de diéthyl-di-thio-carbamate d'argent en solution pyridinée ; l'absorption est mesurée à 540 mμ.

3° - LUKE et CAMPBELL (33) jugeant que les essais de PAYNE n'étaient pas reproductibles préfèrent doser l'Arsenic par formation du complexe arsénio-molybdique réduit. Ils ont néanmoins conservé la méthode d'extraction par le diéthyl-di-thio-carbamate d'ammonium.

Pour appliquer ceci au liquide de destruction toxicologique, nous avons tenté d'emprunter à ces auteurs une partie de leur technique opératoire. En effet, nous avons une parenté évidente entre les phosphates et les germanates qui, tous les deux, interfèrent dans la réaction molybdique finale. On peut donc penser que, là où les germanates seront éliminés, les phosphates le seront aussi.

A priori, nous avons retenu le protocole suivant illustré dans le schéma mentionné ultérieurement.

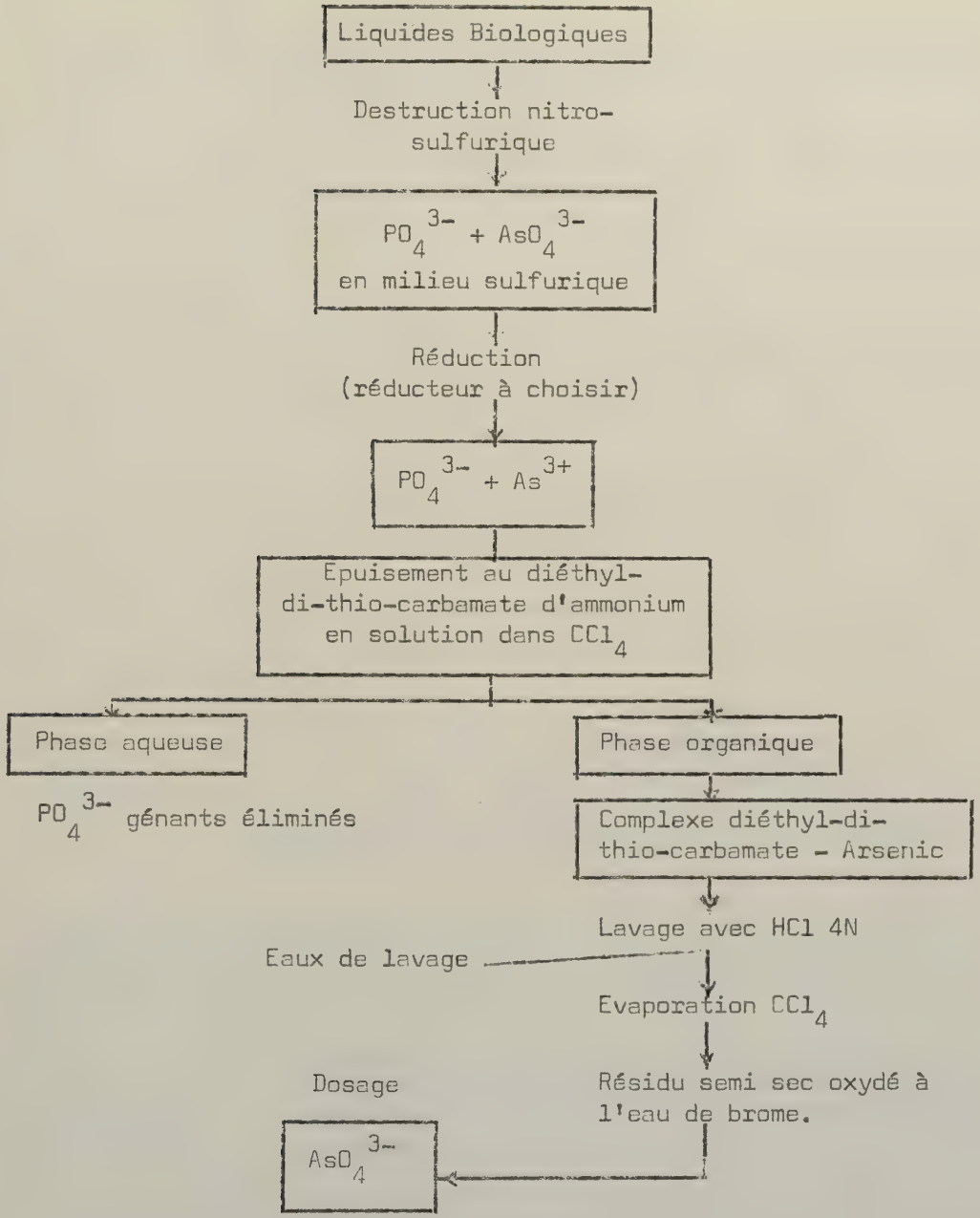
1° - Destruction nitrosulfurique du liquide biologique,

2° - Réduction en arsenic trivalent par un réducteur à étudier (IK, $TiCl_3$, acide ascorbique).

3° - Extraction avec le diéthyl-di-thio-carbamate d'ammonium.

4° - Réoxydation puis dosage colorimétrique.

L'ensemble de ces différentes opérations est résumé dans le schéma suivant.


Liquides Biologiques
Destruction nitro-sulfurique
PO_4^{3-} + AsO_4^{3-} en milieu sulfurique
Réduction (réducteur à choisir)
PO_4^{3-} + As^{3+}
Epuisement au diéthyl-di-thio-carbamate d'ammonium en solution dans CCl_4
Phase aqueuse
Phase organique
PO_4^{3-} génants éliminés
Complexe diéthyl-di-thio-carbamate - Arsenic
Lavage avec HCl 4N
Eaux de lavage
Evaporation CCl_4
Résidu semi sec oxydé à l'eau de brome.
Dosage
AsO_4^{3-}

I - DESTRUCTION :

Compléter avec de l'eau à 50 ml, le liquide de destruction. Ce liquide contient donc une forte quantité de phosphates et une petite quantité d'arséniates.

Neutraliser à l'ammoniaque en présence de papier de tournesol en maintenant une légère acidité.

II - REDUCTION :

Nous avons utilisé comme réducteur l'iodure de potassium en excès préconisé par les auteurs précédents ; pour éliminer l'iode libéré, nous avons employé soit l'acide ascorbique, soit du métabisulfite.

Nous avons constaté que la neutralisation de l'iode au métabisulfite donnait les meilleurs résultats.

Technique :

A 50 ml du liquide de destruction traité comme précédemment indiqué, ajouter :

. 15 ml d'acide chlorhydrique pur, agiter,
. 1 ml de solution d'iodure de potassium à 10 p.100 ; porter à 60° (un brunissement à lieu) ; laisser refroidir,
. 1 ml de solution de métabisulfite de potassium à 5 p.100.

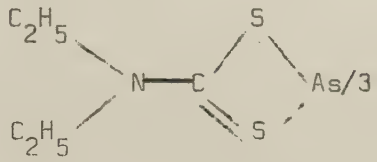
NOTA : Nous constatons qu'au cours de cette phase un précipité se forme. Etant en milieu très acide, nous avons incriminé le soufre provenant d'une décomposition du métabisulfite.

Nous avons repris l'expérience en ajoutant à une solution d'acide chlorhydrique à 30 p.100, 1 ml de métabisulfite à 5 p.100, nous avons obtenu le même précipité jaune-verdâtre qui confirme cette supposition.

FOWLER qui a étudié cette réaction grâce au radio-arsenic 76, a constaté que la réduction des arséniates en arsénites est totale.

III - EXTRACTION :

Nous l'avons réalisée selon la méthode de PAYNE par le diéthyl-di-thio-carbamate d'ammonium non en solution chloroformique mais en solution tétrachlorurée. En effet il nous est apparu que le chloroforme préconisé par PAYNE retenait une quantité non négligeable d'eau, donc une fraction notable de phosphates qui perturberont ultérieurement la réaction colorimétrique finale.



Les lavages de la phase organique voient leur efficacité augmentée par la propriété hydrophobe du tétrachlorure de carbone, ce dernier pourra être desséché d'une façon totale par une filtration sur sulfate de sodium anhydre, en petite quantité, qui sera ensuite élué par 5 ml de tétrachlorure pur.

a) - Réactifs :

. Solution de di-éthyl-di-thio-carbamate d'ammonium à 0,5 g dans 100 ml de tétrachlorure de carbone.
. Liquide de lavage : HCl 4N.

b) - Techniques :

Agiter dans une ampoule à décanter 10 ml de la solution tétrachlorurée de diéthyl-di-thio-carbamate avec le liquide de destruction réduit. Renouveler cette agitation avec 10 ml de solution de D.D.T.C. puis ultérieurement, avec 10 ml de tétrachlorure de carbone pur, On obtient donc une phase organique de 30 ml. Laver trois fois cette phase organique avec chaque fois 10 ml d'eau chlorhydrique de lavage.

NOTA I : FOWLER contrôla également l'extraction de l'arsenic avec As 76 et en déduisit que 99 p.100 de l'arsenic était extrait.

NOTA II : Nous avons testé l'efficacité de notre extraction grâce à la technique de CASTAGNOU-BONINI (34) permettant de mettre en évidence 0,1 mcg d'As. A l'aide de cette technique, utilisée comme méthode de zéro, nous pouvions donc déceler toute présence d'Arsenic égale ou supérieure à cette dose dans le liquide de destruction épuisé et dans le liquide final de lavage. Les essais, pour déceler les pertes, ont été pratiqués sur une dose de 10 mcg d'As au départ. Dans ces conditions nous pouvons dire qu'elles n'excèdent pas 1 p.100.

Après avoir recueilli la phase organique de CCl_4 dans un bécher à haut bord , l'évaporer en plaçant ce dernier au bain-marie bouillant. Au cours de cette expérience, nous avons constaté qu'il y a intérêt à ne pas opérer sur un résidu sec, vu la volatilité d'arsenic III. On surveillera donc les derniers stades d'évaporation du CCl_4 afin d'éviter son évaporation totale ; les dernières traces seront chassées ultérieurement en même temps que le Brome.

IV - OXYDATION :

L'ion As^{3+}, ne pouvant être dosé par une méthode colorimétrique, il faut le réoxyder en arséniates pour pouvoir le doser.

Deux solutions s'offrent à nous pour cette oxydation :

. Une destruction nitroperchlorique du résidu,
. Une oxydation simple à l'eau de brome ou à l'iode.

La destruction nitroperchlorique proposée par FOWLER offre un inconvénient majeur : elle nécessite un chauffage trop important pour éliminer l'acidité du milieu et l'excès d'oxydant.

Le diéthyl-di-thio-carbamate, après évaporation du CCl_4, ne constitue qu'une masse insignifiante de matière organique.

Nous avons donc tenté l'oxydation par l'iode et l'oxydation par le brome.

a) Oxydation à l'Iode :

L'expérience nous a montré que l'Iode est matériellement très difficile à chasser et que les traces restantes gênent ensuite la réaction molybdique au niveau de la réduction : il ne peut agir, par ailleurs, qu'en solution aqueuse diluée ou en solution dans un solvant organique génant.

b) Oxydation au Brome :

Nous avons constaté que c'est la plus intéressante, car elle permet d'obtenir une solution aqueuse à pH neutre après son éliminition complète et aisée.

Réactifs : Eau de Brome saturée.

Remarque : L'eau bromée doit être conservée dans un flacon de plastique ou un flacon de verre enduit de paraffine et recouvert d'eau bipermutée. Boucher très hermétiquement ; agiter le tout vigoureusement et laisser reposer 24 heures.

Ces précautions sont impératives ; en effet, nous nous sommes livré à l'expérience suivante sur l'eau de brome contenue dans un récipient en verre non protégé.

Après 24 heures de contact, nous avons pratiqué la réaction molybdique sur 20 ml ; après évaporation du Brome en excès, le blanc était incolore.

Après 72 heures, le même essai nous a donné une coloration correspondante à celle de 2 mcg d'Arsenic dans la prise d'essai. On peut incriminer les silicates du verre.

Technique :

Sur le résidu de l'évaporation du CCl_4 contenu dans le bécher à forme haute, ajouter 20 ml d'eau de brome saturée, attendre 20 mn. Placer sur une plaque chauffante sous la hotte à aspiration. Porter à ébullition ; chasser le brome et les restes de CCl_4 jusqu'à décoloration de la solution.

Cette décoloration ne laisse toutefois pas présager l'élimination totale de cet oxydant. L'expérience nous a montré, en effet, que si on pratique le dosage à ce stade, on obtient une coloration verte impossible à doser d'une façon significative, les traces d'oxydant perturbent la réaction réductrice.

Il nous a paru qu'il fallait concentrer la solution au tiers de son volume pour chasser entièrement les dernières traces de brome et pour pouvoir à coup sûr conclure le dosage de l'Arsenic.

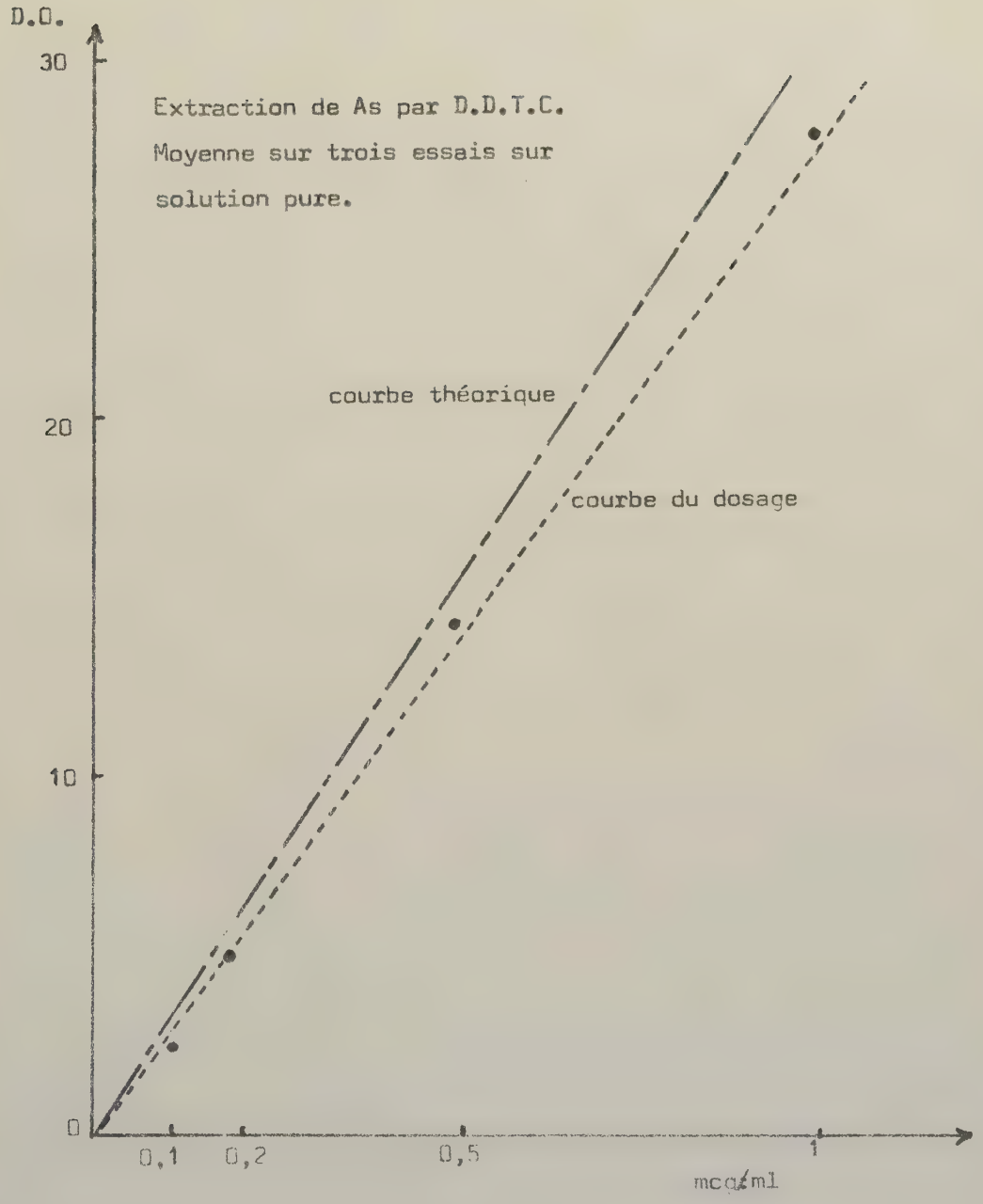
Verser les 7 ml sensiblement restants dans un tube à essai à bouchon rodé, rincer avec environ 3 ml d'eau distillée et pratiquer la réaction colorimétrique décrite avec solvant extractif de la coloration bleue.

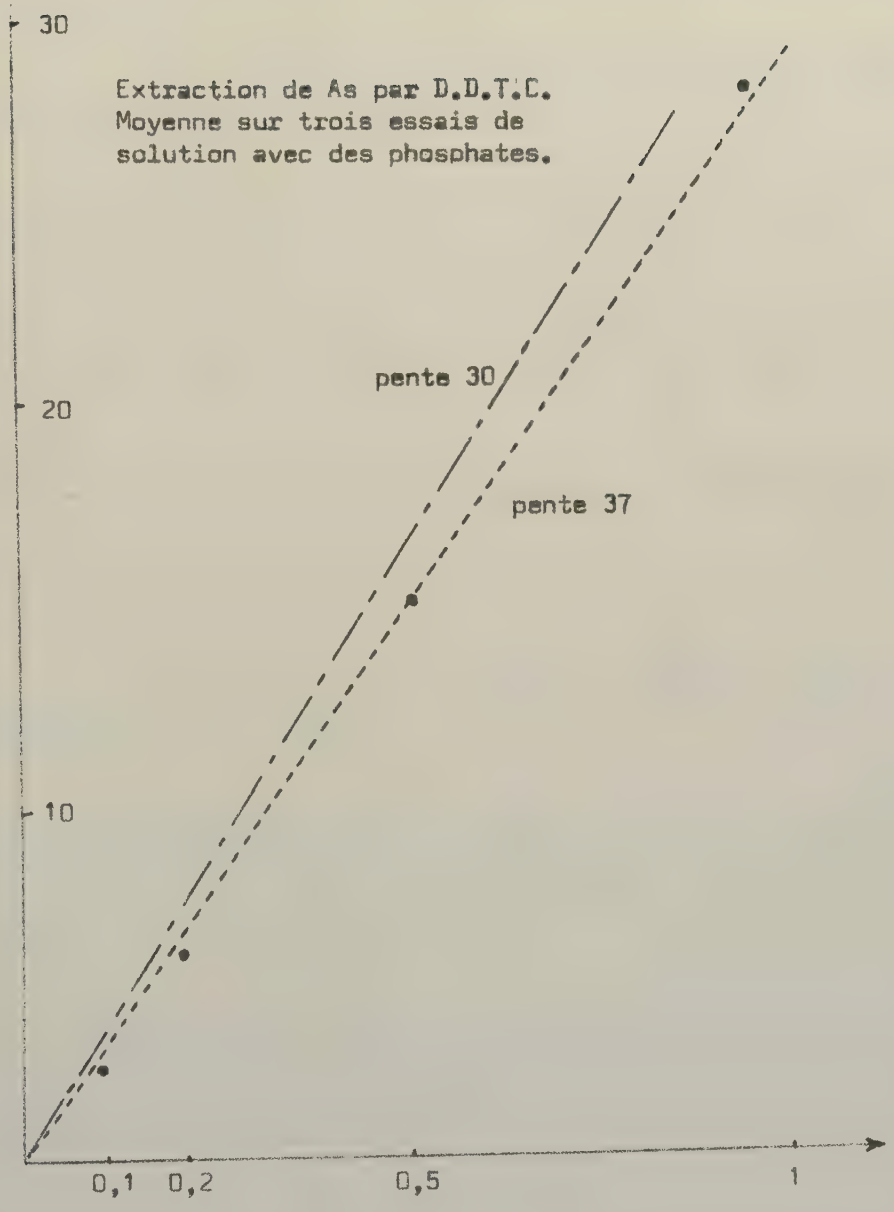
Essais sur solutions pures d'As

D.O.	Concentration en mcg/ml				
	0	0,1	0,2	0,5	1
1er essai	0	2	5	13,5	26
2ème essai	0	3	5,5	14,5	27
3ème essai	0	3	5,5	15	28

Essais sur solutions pures phosphatées

D.O.	Concentration en mcg/ml				
	0	0,1	0,2	0,5	1
1er essai	Blanc	2	5,5	15,5	29
2ème essai	Blanc	3	5	15	27
3ème essai	Blanc	3	6	13	26


D.O.
30
20
10
0
Extraction de As par D.D.T.C.
Moyenne sur trois essais sur
solution pure.
courbe théorique
courbe du dosage
0,1
0,2
0,5
1
mcg/ml


30
20
10
Extraction de As par D.D.T.C.
Moyenne sur trois essais de
solution avec des phosphates.
pente 30
pente 37
0,1
0,2
0,5
1

CONCLUSION de cette METHODE :

D'après la comparaison des pentes (30 pour les solutions témoins, 27 pour le dosage) le rendement moyen de cette méthode avoisine 90 p.100.

Cette technique est relativement brève malgré la longue évaporation du CCl_4.

Il faut toutefois remarquer que l'étain et l'antimoine interfèrent et peuvent saturer le réactif ; de ce fait l'Arsenic ne serait pas extrait.

Il nous est apparu, vu les conditions opératoires, qu'il existe une similitude avec la méthode de MIGEON (23) ; en effet, comme dans la méthode de cet auteur, où le milieu est très acide, l'iodure d'arsenic formé ne serait plus en solution aqueuse ce qui expliquerait son passage spontané sous cette forme dans la phase tétrachlorurée, où il se combinerait ou non au D.D.T.C. , nous expliquerons ainsi les pertes parfois constatées.

Technique rapide proposée sur une solution arsénio-phosphatée :

A une prise d'essai de 50 ml du liquide de destruction, ajouter 15 ml d'acide chlorhydrique concentré ; agiter ; ajouter 1 ml de solution aqueuse d'iodure de potassium à 10 p.100.

Porter à 60° C environ jusqu'à apparition d'Iode ; neutraliser cet Iode par 1 ml de solution aqueuse de métabisulfite de potassium à 5 p.100.

Epuiser ce liquide transféré dans une ampoule à décantation par deux fois 10 ml d'une solution de 0,5 g de D.D.T.C. de NH_4 dans 100 ml de tétrachlorure de carbone ; laver avec 10 ml de CCl_4 pur ; recueillir les phases organiques ; les transférer dans une ampoule à décantation.

Laver cette phase organique par trois fois avec 10 ml d'acide chlorhydrique (4 N) ; rejeter les phases aqueuses de lavage . Transférer la phase organique dans un bécher à haut bord et évaporer au bain-marie jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un fond de tétrachlorure de Carbone.

Ajouter 20 ml d'eau de brome saturée conservée dans un flacon de plastique ; brasser à l'agitateur.

Evaporer par ébullition rapide et concentrer le liquide au tiers de son volume. Transférer le volume restant dans un tube à essai à flacon rodé contenant 0,3 ml de réactif molybdique (p. 30) ; ajouter les 3 ml d'eau distillée ayant servi à rincer le bécher.

Recouvrir la phase aqueuse de 4 ml de méthyl-isobutylcétone ; retourner le tube.

Ajouter 1 ml de solution de chlorure stanneux dilué (p. 29) ; attendre 10 mn.

Extraire par agitation ; centrifuger la phase organique colorée en bleu et lire l'absorption à 720 mμ .

Comparer à une courbe étalon.

*
* *

CHAPITRE TROISIEME

***

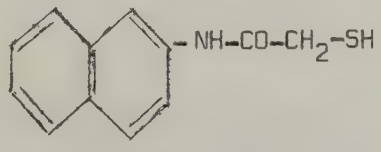
METHODE A LA THIONALIDE

INTRODUCTION

PORTMAN et RILEY (24) pour résoudre le problème de la concentration de très petites quantités d'Arsenic dans un grand volume de solution aqueuse (eau de mer), utilisèrent la Thionalide comme agent d'insolubilisation de l'Arsenic trivalent. Notre problème toxicologique est à la fois identique et différent de celui de ces auteurs puisqu'il nous est nécessaire de concentrer l'Arsenic mais aussi de le sélectionner très rigoureusement des phosphates ; rappelons en effet que, dans une prise d'essai de 200 ml d'urines, nous avons en moyenne 60.000 à 100.000 mcg de phosphore contre environ 10 mcg d'Arsenic.

Nous avons pensé que la Thionalide était capable de résoudre ces deux problèmes puisqu'elle ne donne par ailleurs aucune combinaison avec les phosphates.

Nous rappelons que la Thionalide est l'α mercapto - N-2 naphtyl acétamide.



C'est un réactif utilisé pour isoler l'Argent, le Mercure, le Thallium, le Bismuth, il est rigoureusement insoluble dans l'eau et soluble dans la plupart des solvants organiques.

I - ESSAIS SUR DES SOLUTIONS ARSENICALES PURES

Les essais ont porté sur des dilutions réalisées à partir de la solution mère suivant :

Solution étalon d'Arsenic à 1,000 g d'As par litre,

Dissoudre 4,16 g d'arséniate de soude cristallisé à 7 H_2O dans 1000 ml d'eau distillée.

Pour des raisons que nous exposerons ultérieurement nous avons pratiqué nos essais sur des dilutions telles que 50 ml contenaient respectivement : 0, 2, 5, 10, 25 et 40 mcg.

1° - ETUDE DES AGENTS REDUCTEURS :

La Thionalide réagissant seulement avec l'ion arsénite As (III), il nous était préalablement nécessaire de réduire l'ion arséniate. Pour ce faire nous avons essayé trois réducteurs :

a) Iodure de potassium :

La réaction effectuée à 65° est très efficace ; l'Iode apparaît lentement dans la solution et il est réionisé par le bisulfite. Nous avons constaté cependant que les pertes en halogénures d'arsenic volatil étaient ultérieurement importantes en raison du chauffage de la solution sous dépression. De ce fait, ce réducteur, excellent par ailleurs, a été abandonné.

b) Trichlorure de Titane :

Ce réducteur est intéressant par le fait qu'il réduit entièrement les arséniates en arsénites à froid et qu'il s'agit d'un produit commercial très pur pratiquement exempt d'Arsenic.

Cependant il offre un grand désavantage ; devant être utilisé en excès et ayant les propriétés des métaux lourds il sature la Thionalide préférentiellement à l'Arsenic trivalent.

Nous signalons toutefois que ce sel sera utilisé ultérieurement dans nos essais de purification par le réactif ammoniacal-magnésien ; nous serons alors en milieu alcalin et l'excès

de sel titaneux sera précipité sous forme de $Ti(OH)_3$.

Ici encore, nous avons donc abandonné ce réducteur pourtant plein d'intérêt dans cette réduction.

c) Acide ascorbique :

C'est un produit pur, qui, à la concentration de 5 p.100 est de bonne conservation au réfrigérateur à une température de + 5° C.

A la dilution arsénicale, ajouter 1 ml de solution à 5 p.100 d'acide ascorbique. Porter rapidement à début d'ébullition après avoir recouvert l'erlenmeyer d'un verre de montre.

Rincer les paroies et le verre à l'eau distillée puis ajouter, à nouveau, 1 ml de solution d'acide ascorbique pour maintenir le milieu réducteur : laisser refroidir environ 20 mn. On considère alors que tout l'Arsenic pentavalent est réduit en Arsenic trivalent. Bien qu'aucun contrôle ne soit possible à ce stade les essais que nous avons effectués ultérieurement sont en accord avec cette supposition.

2° - ETUDE DE L'ACIDITE DU MILIEU :

La combinaison de la Thionalide avec l'Arsenic (III) s'effectue en milieu acide. Le problème de l'acidité ne se pose donc pas dans un dosage sur un liquide de destruction.

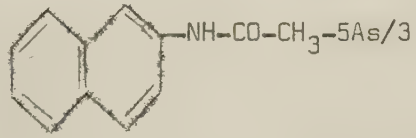
Pour les essais effectués sur des solution étalons nous avons retenu l'acidité sulfurique 0,4 N.

Ce pH bas assure ainsi, dans la phase aqueuse, une sélectivité relative de la réaction As-Thionalide ; signalons que, si le Thallium, n'interfère pas dans ces conditions, le Cuivre, lui, par contre, donne une combinaison Thionalide-Cuivre insoluble.

3° - PRECIPITATION THIONALIDE-ARSENIC (III) :

Réactifs :

On utilise une solution à 2 p.100 de Thionalide dans l'acétone.

Combinaison arséniée de la Thionalide 

Cette solution doit être rigoureusement préparée au moment de l'emploi car elle ne se conserve que quelques heures. En effet, l'expérience nous a cruellement montré que les solutions de Thionalide ayant plus de 48 heures sont sans action pour un dosage ; on observe l'apparition progressive d'un précipité accompagné d'un jaunissement de la coloration.

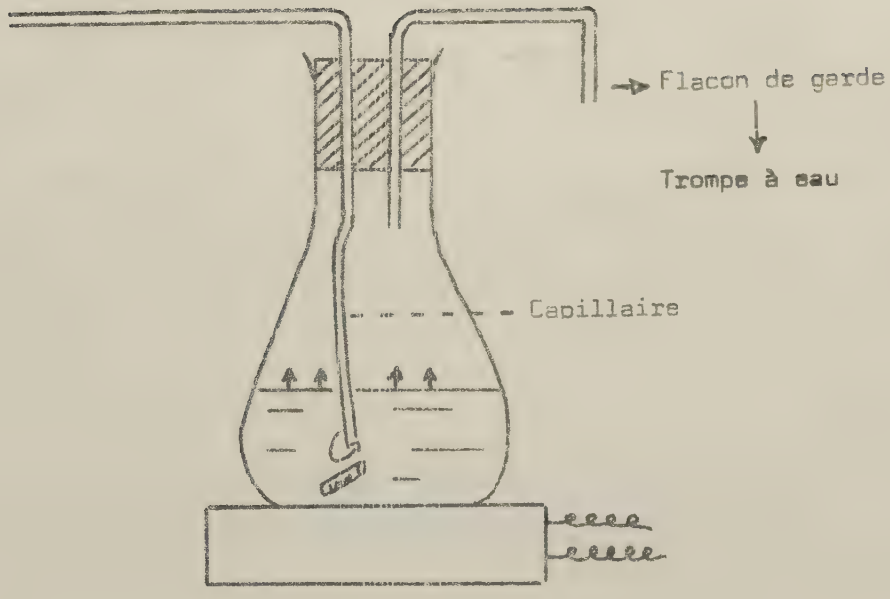
Technique :

Le milieu tiède et précédemment réduit, d'un volume voisin de 60 ml, est placé sur un agitateur magnétique.

Ajouter goutte à goutte 7 ml de la solution acétonique de Thionalide en agitant énergiquement. On constate qu'un précipité blanc se forme peu à peu et finalement s'agglomère sous forme micro-cristalline. Les conditions d'agitation sont impératives pour arriver à ce résultat.

Pour assurer une complète insolubilisation du précipité arsénical de Thionalide, il convient de chasser toute l'acétone dont la présence maintiendrait en solution une partie de l'Arsenic combiné qui serait perdu au moment de la filtration du précipité.

Pour éliminer l'acétone nous avons utilisé une aspiration sous dépression et chauffage très modéré.



Nous avons ainsi évité :

. d'une part une altération manifeste de la Thionalide due à l'ébullition,

. d'autre part le refroidissement de 24 heures assez gênant préconisé par les auteurs ; la rapidité du dosage est ainsi accrue.

Le thermostat de la plaque chauffante est réglé d'une façon modérée ; une température de 40 à 50° sous vide étant très largement suffisante pour assurer l'élimination complète de l'acétone entraînée par l'air du capillaire et par l'eau de la solution qui entre ensuite en ébullition.

On laisse ensuite refroidir spontanément pendant 30 mn.

4° - ISOLEMENT DU PRECIPITE :

Nous avons utilisé dans ce but deux méthodes :

. filtration et lavage,
. filtration puis reprise par un solvant organique.

Cette deuxième technique sera explicitée au cours des essais réalisés sur des solutions arsénicales surchargées en phosphates.

Lors du traitement d'une solution arsénicale pure le lavage ne s'impose pas vu l'absence de phosphates mais pour étudier les pertes possibles au cours de cette opération nous avons lavé le précipité dans les mêmes conditions que celles qui seront mises en oeuvre lors de la présence de phosphates.

a) Filtration :

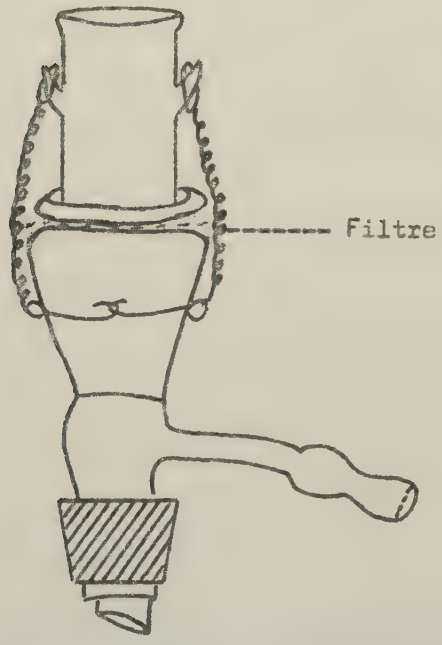
Il est nécessaire pour obtenir une bonne récupération du précipité d'utiliser non pas un verre fritté mais un papier filtre en rondelle placé dans le dispositif classique schématisé page suivante.

- Contrôle d'efficacité :

Après filtration totale du liquide de réaction à la Thionalide, contenant au départ 25 mcg d'Arsenic, la moitié de ce filtrat (30 ml) fut soumis au test de l'hydrogénation précédemment décrit ; par comparaison à la gamme étalon la fraction d'Arsenic non complexée par la Thionalide a été trouvée équivalente, au maximum, à 0,2 mcg soit 0,8 p.100 de la dose de départ.

On peut considérer qu'une fraction égale à 99,2 p.100 de l'Arsenic mis en oeuvre a été retenue sur le filtre.

Dispositif de filtration utilisé



b) Lavage : Le filtre est lavé avec 200 ml d'eau bipermutée. Le filtre avec son précipité est alors placé dans l'erlenmeyer non lavé qui a servi à la précipitation et agité avec 150 ml d'eau.

La Thionalide arsénicale se sépare du filtre et est ainsi lavée. Cette opération est importante pour assurer l'élimination totale des phosphates. Centrifuger vivement et rincer avec les eaux de lavage de l'erlenmeyer.

Le liquide surnageant du centrifugat est éliminé doucement à l'aide d'un siphon fonctionnant comme un capillaire. Cette opération est nécessitée par la faible densité du produit qui ne donne pas un culot adhérent. De ce fait tout mouvement

trop brusque de la phase supérieure entraînerait une dispersion des cristaux de Thionalide dans le tube à centrifuger annulant du même coup l'effet de la centrifugation.

Renouveler le lavage de ce culot avec q.s. d'eau distillée ; centrifuger et éliminer les phases aqueuses. Remettre en suspension, avec de l'eau, d'un coup de pissette, le précipité thionalidique restant dans les tubes et l'entraîner sur un filtre neuf légèrement humidifié déposé dans l'appareil à filtration précédent rigoureusement rincé.

On est ainsi à l'abri de toute contamination de phosphates.

5° - MINERALISATION DU PRECIPITE DE THIONALIDE-ARSENIC

Nous n'avons pas retenu la minéralisation nitrique, trop longue, préconisée par les auteurs. Nous avons dans ce but essayé trois méthodes.

a) - Méthode à l'eau bromée :

Nous avons utilisé cet oxydant par analogie avec la précédente méthode au diéthyl-di-thio-carbamate d'ammonium. Ici cette oxydation n'est pas satisfaisante car, si on peut considérer que l'Arsenic complexé passe à l'état d'arséniates; des dérivés bromés aromatiques, provenant d'une décomposition de la Thionalide, se forment dans le milieu réactionnel et une filtration et une extraction par solvant organique peuvent seules éliminer ces corps parasites.

b) - Méthode au perhydrol :

En nous inspirant de la méthode de TRUHAUT pour doser le mercure, nous avons essayé le perhydrol pour libérer notre arsenic sous forme d'arséniates. La liaison R-S-Hg-S-R étant rompue par le perhydrol, nous avons pensé que la liaison R-S-As/3 serait également sensible à cet agent.

Nous avons donc traité à froid le complexe arsénié de la Thionalide par 1 ml de perhydrol, et après quelques minutes, ajouté 10 ml d'eau. Le liquide de filtration est légèrement colo-

ré en brun. Pour obtenir un liquide incolore et chasser l'excès d'eau oxygénée nous avons ajouté une goutte de soude à 40 p.100, une tournure de Cuivre très pur puis chauffé légèrement ; l'oxygène se dégage abondamment. Au bout de quelques minutes on obtient un liquide incolore que l'on réduit à chaud à 7 ml environ. Transférer dans un tube à essai, compléter sensiblement à 10 ml avec 3 ml d'eau de lavage.

Pratiquer alors la réaction molybdique.

On constate une récupération très honnête de l'Arsenic en dosant colorimétriquement par rapport à un blanc. Cependant, ce blanc reste extrêmement coloré par l'apport de phosphates dû à l'eau oxygénée employée (pourtant la plus pure Merck).

Résultats

As en mcg	0	10 mcg
D.O.	11	39
Quantité As corr.	4 mcg	13 mcg

Cette méthode ne peut donc pas être utilisée pour notre dosage car elle est d'une imprécision incompatible avec la valeur des doses d'Arsenic recherchées dans nos liquides de destruction. Il faut toutefois remarquer que le rendement en As est convenable et on peut en déduire que l'eau oxygénée à 100 volumes rompt effectivement la liaison entre la Thionalide et l'As^{3+}.

c) - Destruction nitro-sulfurique :

La destruction par les acides nitrique et sulfurique nous a finalement paru la meilleure malgré la relative acidité du liquide de destruction de la Thionalide arsénicale. Cette

acidité nous a en effet servi finalement à pouvoir effectuer une extraction par solvant organique sélectif entre les acides phosphomolybdiques et arséniomolybdiques.

- Réactifs :

. Acide nitrique pur toxicologique,
. Acide sulfurique pur toxicologique,
. Mélange d'acide perchlorique 1/3, acide nitrique 2/3 en volume.

- Technique :

Le filtre contenant la Thionalide arséniée est introduit dans un Kjeldalh de 100 ml.

Rincer ensuite la partie supérieure du support en verre du filtre par 3 ml d'acide nitrique concentré et les ajouter dans le Kjeldalh ; ajouter à nouveau 3 ml d'acide nitrique concentré de façon à recouvrir le filtre et le précipité ; le mélange brunit et bouillonne aussitôt.

Chauffer pour concentrer et arrêter le chauffage aux premières émissions de vapeurs nitriques. Ajouter alors 1,1 ml d'acide sulfurique concentré et reprendre le chauffage jusqu'à émission de vapeurs blanches ; laisser refroidir et ajouter 2 ml d'acide nitrique concentré.

Chauffer à nouveau jusqu'à émission de vapeurs blanches : on observe un noircissement intense. Eviter de chauffer à sec.

Brancher classiquement le goutte à goutte nitrique. Le sulfate acide de nitrosyle rend le Kjeldalh opaque et la destruction continue ainsi jusqu'à ce que les vapeurs rousses reviennent.

Stopper le débit du capillaire et on récupère dans la phase liquide les particules solides qui ont été projetées et restent fixées sur les paroies. Cette opération est importante car les résidus non détruits peuvent à eux seuls faire échouer totalement le dosage du fait de leur intense coloration jaune. Il y a intérêt à ajouter à ce stade, dans le liquide de destruction, une dizaine de gouttes de la solution composée du mélange de 2/3 d'acide nitrique et de 1/3 d'acide perchlorique

pour parfaire la destruction. Chasser les vapeurs rousses en chauffant jusqu'à obtention d'un liquide jaune clair ou incolore. En refroidissant ce liquide doit devenir incolore. Ajouter 10 ml d'eau. Récupérer le liquide de destruction et rincer avec quelques millilitres d'eau.

d) - Neutralisation :

Pour éviter lors de la neutralisation, toute adjonction de phosphates indhérents aux alcalis classiques, nous avons été amené à utiliser de l'ammoniaque suprapure Merck.

La neutralisation fut effectuée, goutte à goutte, en observant la conduite de l'opération par l'évolution du pH par touches successives réalisées avec une pipette pasteur boutonnée sur un papier indicateur de pH.

Il nous est apparu nécessaire d'amener la solution à pH = 8. Il vaut mieux en effet dépasser la limite de neutralisation que de ne pas l'atteindre. Nous avons exclu totalement le contrôle facile au pHmètre car la solution tampon à pH = 7 permettant de régler cet appareil est une solution phosphatée ; on conçoit aisément de ce fait qu'il est impossible de ne pas souiller le dosage après un réglage de l'appareil.

Après cette opération, dans 70 p.100 des cas, il se manifeste une coloration jaune dans le liquide de destruction, elle est due à la formation de dérivés aromatiques provenant d'une parcelle du noyau plus ou moins dégradé de la Thionalide. Pour éliminer ce composé nous avons naturellement tenté une extraction par un solvant organique : éther, CCl_4, $CHCl_3$ ont été essayés avec succès mais il nous a semblé plus simple d'utiliser un solvant retenant le minimum d'eau donc de solution et incapable d'extraire l'acide arsénio-molybdique. Nous avons donc formé le complexe arsénio-molybdique puis nous avons extrait par le butyl-acétate qui n'extrait pas ce complexe (6) et qui se sépare très aisément de la phase aqueuse.

6° - DOSAGE COLORIMETRIQUE

Lors de notre étude du rendement du dosage, effectuée sur une solution pure d'arséniate, nous avons mis en oeuvre le dosage colorimétrique avec extraction à la cyclohexanone ; la quantité

d'acide sulfurique utilisée lors de la destruction de la Thionalide arséniée ayant été préalablement calculée soigneusement pour avoir, lors de la neutralisation, le minimum d'ammoniaque à ajouter ; ainsi il se forme un minimum de sulfate d'ammonium et le complexe arsénio-molybdique sera, dans ces conditions, extractible en totalité par la cyclohexanone (solvant utilisé dans ces conditions).

- Réactifs : voir chapitre I

- Technique :

Verser dans une fiole jaugée de 25 ml le liquide de destruction neutralisé ; ajouter 0,9 ml de solution de molybdate d'ammonium ; compléter au trait ; homogénéiser après obturation non avec le doigt mais avec un bouchon de caoutchouc rigoureusement propre.

Transférer ensuite la solution dans une ampoule à décanter et ajouter 10 ml de n-butyl-acétate ; agiter et laisser décanter ; la coloration jaune parasite doit être entièrement extraite, elle interfèrerait ultérieurement avec le dosage colorimétrique.

Prélever quantitativement 10 ml de la phase inférieure ainsi purifiée dans un tube à essai à bouchon rodé, ajouter 0,1 ml de réactif molybdique et 5 ml de cyclohexanone. On opère ainsi sur les 2/5 de la prise d'essai initiale.

Retourner rapidement, ajouter alors 1 ml de la solution diluée de $SnCl_2$. Retourner à nouveau et laisser la coloration se développer.

Extraire la coloration dans la phase aqueuse. Après centrifugation, mesurer la D.O. à 720 mμ dans des cuves de 1 cm. La quantité d'Arsenic trouvée correspond aux 2/5 de la prise de départ.

Résultats :

Ils sont exprimés dans le tableau de la page suivante en D.O. en fonction des quantités d'Arsenic mises en oeuvre.

Quantités départ	2 mcg	5 mcg	10 mcg	25 mcg	40 mcg
Quantités dans la prise soumise au dosage	0,8	2	4	10	16
1er	2,5	5,5	11	27	44
2ème	3	6	11,5	27,5	43
3ème	3	6	11,5	28	43

Quantités d'Arsenic dosées sur les 10 ml correspondant aux 2/5 de la prise de départ.

Théorique en mcg	mcg retrouvé dans 10 ml		
	1er	2ème	3ème
0,8	0,7	0,7	1
2	1,8	1,9	1,9
4	3,7	3,9	3,7
10	9,6	9,2	9,6
16	15	14,7	14,7

II - ESSAIS SUR DES SOLUTIONS ARSENICALES ET PHOSPHATEES

Nous avons cherché à appliquer la méthode, précédemment retenue, au dosage d'Arsenic en présence de Phosphates.

Pour que la réaction soit spécifique des arséniates, il faudra donc vérifier que les phosphates ainsi que les silicates aient été totalement éliminés.

A ce propos il faut noter que la quantité de silicates urinaires est largement inférieure à celle des phosphates ; on peut considérer que l'élimination totale des phosphates entraînera concomitamment celle des silicates.

Pour ce faire nous avons mis en oeuvre deux séries d'expériences :

. traitement d'un liquide de destruction d'albumine d'oeuf très pauvre en As,
. traitement d'une solution phosphatée théoriquement exempte d'Arsenic.

Nous verrons que ces deux essais nous amènerons à certaines modifications de la technique opératoire précédemment décrite.

1° - ESSAI SUR UN LIQUIDE DE DESTRUCTION D'ALBUMINE D'OEUF :

- 160 g de blanc d'oeuf frais ont été minéralisés par voie sulfonitrique ; le liquide de destruction a été amené à 100 ml.

- Des dosages colorimétriques de l'ion phosphorique sur une dilution de ce liquide de destruction, ont donné la valeur moyenne de 12 mg exprimée en P_2O_5 dans 100 g d'albumine soit 0,012 g p.100.

- Nous avons alors, sur 20 ml, mis en oeuvre notre méthode à la Thionalide décrite précédemment et nous avons obtenu un taux d'Arsenic de 6 mcg pour 100 g d'albumine.

Ce résultat fut contrôlé et confirmé sur le même volume de liquide de destruction par l'appareil de Cribier horizontal précédemment utilisé ; la tache était sensiblement identique à celle donnée par une solution arsénicale de 2 mcg dans 20 ml d'eau, soit 6 mcg p.100.

Donc notre technique, dans les circonstances présentes portant sur un liquide de destruction pauvre tant en Arsenic qu'en phosphate donne d'excellents résultats.

2° - ESSAI SUR DES SOLUTIONS PURES DE PHOSPHATE :

a) - Doses utilisées :

Nous avons utilisé des concentrations de phosphates supérieures à celles maximum., présentes dans des liquides de destruction. Nous avons opéré sur des prises d'essai contenant 2 g de phosphate mono-ammonique soit environ 0,55 g de phosphore ; ceci correspondant à 5,5 fois le taux maximum usuel de phosphates dans nos prises d'essai correspondant aux liquides de destruction des urines mis en jeu.

b) Principe :

Trois essais parallèles ont été tentés :

- Un blanc (N° 1)
- Un essai effectué sur une solution de 2 g (N° 2) de phosphate mono-ammonique dans 100 ml d'eau non soumise à la réduction par l'acide ascorbique ; les impuretés arséniates de l'échantillon n'étant pas réduites cet essai doit être considéré comme un second blanc ; il testera l'élimination des phosphates.
- Un essai pratiqué sur la même solution phosphatée réduite cette fois-ci par l'acide ascorbique (N° 3) afin de doser les impuretés arsénicales incluses normalement dans le phosphate utilisé : le taux maximum d'Arsenic porté sur l'emballage du produit est de 0,0001 g p.100, soit, pour les 2 g utilisés, une quantité maximum de 2 mcg d'As dans la prise d'essai, taux dosable par notre méthode.

C) Technique opératoire : le protocole opératoire général est résumé dans le tableau suivant :

Essai N° 1	Essai N° 2	Essai N° 3
Blanc	2 g de $PO_4H_2NH_4$	2 g de $PO_4H_2NH_4$
acide ascorbique		acide ascorbique
Thionalide	Thionalide	Thionalide

Les précipités thionalidiques obtenus ont été lavés avec 1 litre d'eau distillée. Après divers essais nous avons été amené, pour des raisons de technique, à manipuler le précipité non en nature mais après une dissolution dans un solvant organique : l'éther. Le précipité lavé, a été repris par 10 ml d'éther et cet éther a été lavé à son tour par trois fois, avec 10 ml d'eau distillée légèrement acidulée.

Sur ces deux eaux de lavage, nous avons pratiqué la réaction cerruléo-molybdique précédemment décrite, sans phase organique d'extraction étant donné le caractère de simple contrôle de l'opération puisqu'il n'est destiné qu'à vérifier la présence ou l'absence de phosphates.

La première eau de lavage dénonce une assez grande quantité de ces ions.

La troisième reste pratiquement incolore ce qui signe une élimination totale.

La phase éthérée lavée, de chacune des expérimentations, est introduite quantitativement dans un Kjeldalh puis évaporée au bain-marie sous légère dépression effectuée au sommet du col du Kjeldalh (cette aspiration est obtenue en reliant un tube de verre coudé à un tuyau de caoutchouc relié à une trompe à eau). En fin d'opération le précipité sec et blanc de thionalide reste dans le fond du Kjeldalh.

Sur ce résidu est pratiquée la classique destruction nitrosulfurique précédemment décrite.

Le liquide de destruction, amené au minimum d'acidité est complété à un volume de 10 ml sur lequel nous avons pratiqué la réaction cerruléo-molybdique avec extraction par l'alcool amylique.

Résultats :

	Essai N° 1	Essai N° 2	Essai N° 3
	Blanc	Blanc + phosphates	Impuretés As + phosphates
D.O.	0	0 +	4,5
mcg As	0	0	1,4

Observations :

On peut conclure de cette expérience que l'élimination des phosphates est totale, ce qui ne nous surprend pas puisque nous avons pu contrôler cette élimination en examinant les eaux de lavage de la phase éthérée.

La solubilisation du précipité de Thionalide par un solvant organique permet d'éviter une fastidieuse destruction du filtre. Cette technique ainsi modifiée, sera exploitée ultérieurement de façon à avoir un contrôle plus visible de l'élimination des phosphates.

3°- ESSAI D'ELIMINATION DE L'ACIDE PHOSPHO-MOLYBDIQUE PAR LE N-BUTYL-ACETATE :

Nous avons essayé d'extraire en totalité l'acide phosphomolybdique par ce solvant organique sélectif. Les essais effectués nous ont montré qu'il a, par ailleurs l'avantage d'isoler, en même temps, du liquide de destruction, la coloration jaune parasite due à la nitration du noyau aromatique.

Technique :

A 10 ml d'un liquide de destruction artificiel dans lequel nous avons ajouté une quantité de sulfate d'ammonium égale à celle produite par la neutralisation de l'acide sulfurique en

excès par l'ammoniaque, est ajouté 1,6 mcg de phosphates exprimés en phosphore.

Pratiquer la réaction molybdique sur les 10 ml. Trois extractions sont pratiquées.

Résultats : cf. courbe page suivante.

	Nombre d'extractions			
	0	1	2	3
Quantités en P restant dans 10 ml en mcg.	1,6	0,8	0,5	0,1

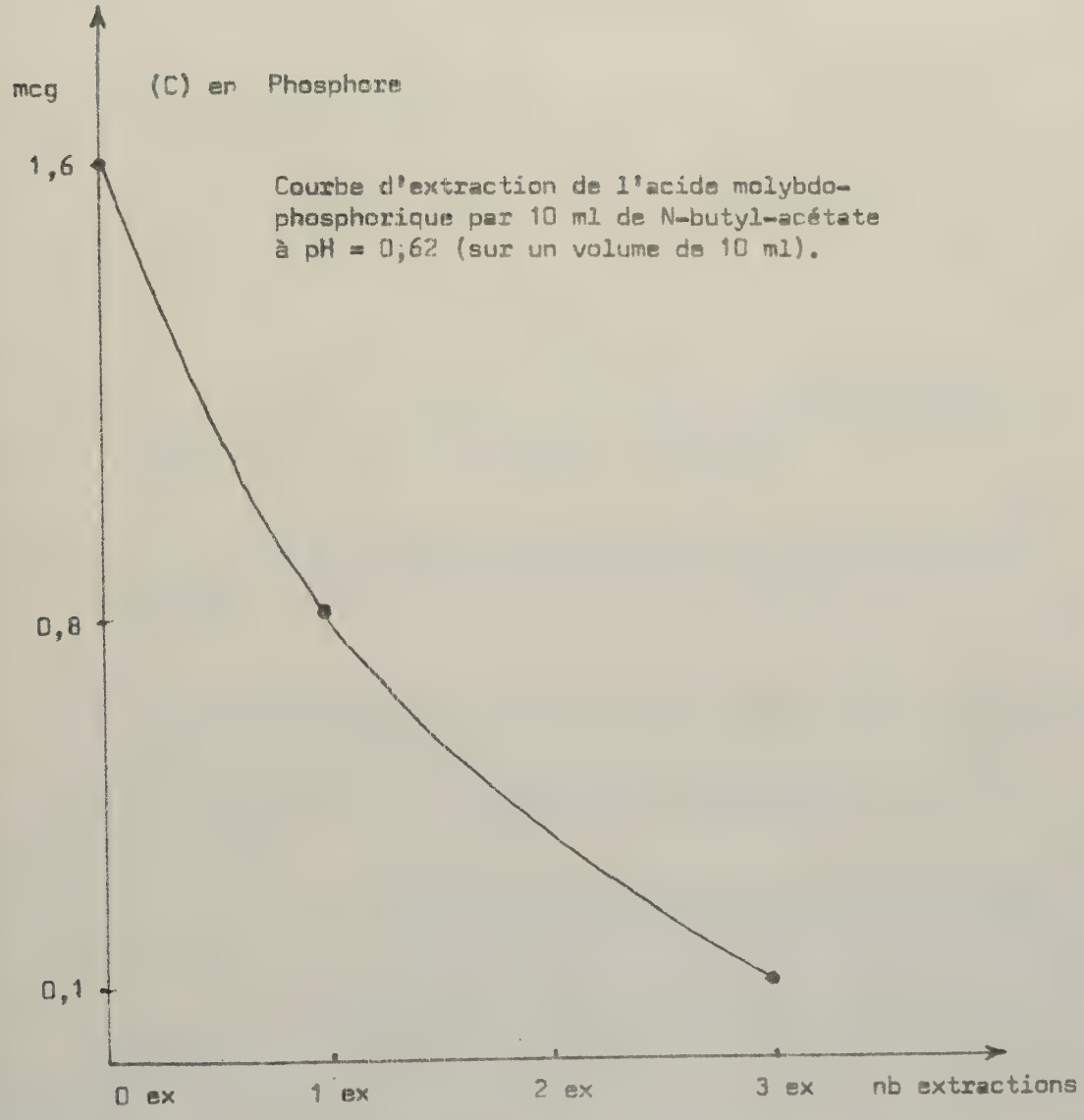
Observations :

Lors de la première extraction, la moitié de l'acide phosphomolybdique est éliminé, malgré les électrolytes normalement présents, après la troisième extraction il ne reste plus que 6 p.100 de phosphore initial. En principe après la minéralisation du précipité de Thionalide arsénicale il ne reste pratiquement pas de phosphates ; cette extraction amènerait donc une garantie supplémentaire d'élimination totale de cet ion perturbateur.

III - ESSAI SUR UN LIQUIDE DE DESTRUCTION URINAIRE :

Devant les bons résultats obtenus dans le paragraphe précédent nous avons appliqué cette technique à un liquide de destruction urinaire. L'expérience nous a montré que nous avons dû y apporter quelques légères modifications.

Nous les décrirons au fur et à mesure que nous avons été contraint de les mettre en oeuvre en raison des différences de composition entre les solutions types précédemment utilisées



Courbe d'extraction de l'acide molybdo-phosphorique par 10 ml de N-butyl-acétate à pH = 0;62 (sur un volume de 10 ml).

et les liquides de destruction contenant d'une part une proportion d'acide sulfurique importante et d'autre part des ions métalliques génants (Cu^{++}, Fe^{+++}).

1° - ETUDE DU LIQUIDE DE DESTRUCTION :

Pour obtenir un liquide de destruction de référence sur lequel on pourra effectuer des essais comparatifs, nous avons d'abord détruit un litre d'urine par la méthode nitro-sulfurique habituelle en minimisant au maximum la quantité d'acide sulfurique utilisé afin de limiter l'acidité du liquide de destruction final. Le liquide de destruction a été complété à 200 ml.

2° - DOSAGE DES PHOSPHATES :

Sur le liquide de destruction nous avons dosé les phosphates urinaires par colorimétrie cerruléo-molybdique classique selon la technique résumée ci-dessous :

- diluer 1 ml du liquide de destruction à 25 ml ; prendre 1 ml de cette solution (correspondant à 1/5000 du L.D.) et la diluer à son tour à 50 ml (Sol. 3) (dilution à 1/250 000 du L.D.).

- sur 10 ml d'une dilution aqueuse au 1/10e de la dernière solution 3 ; pratiquer la réaction cerruléo-molybdique avec extraction à l'alcool amylique.

Nous avons ainsi trouvé 4 mcg dans la prise d'essai soit 1 g de P_2O_5 p.1000 de liquide de destruction ou (0,44 g de P p.1000).

- dans la prise d'essai de 10 ml sur laquelle nous effectuerons le dosage d'Arsenic il y a donc 32 mg de Phosphore.

3° - DOSAGE DE L'ARSENIC PAR LA PRECIPITATION MAGNESIENNE :

Principe :

Dans leur méthode FABRE et CISMARU coprécipitent les phosphates et les arséniates grâce au réactif ammoniacal magnésien. Nous avons essayé de réduire, préalablement à cette préci-

pitation, les arséniates en arsénites en espérant que ces derniers resteraient en solution. Nous avons donc dosé l'Arsenic d'une part dans le précipité et d'autre part dans la solution.

Réactifs :

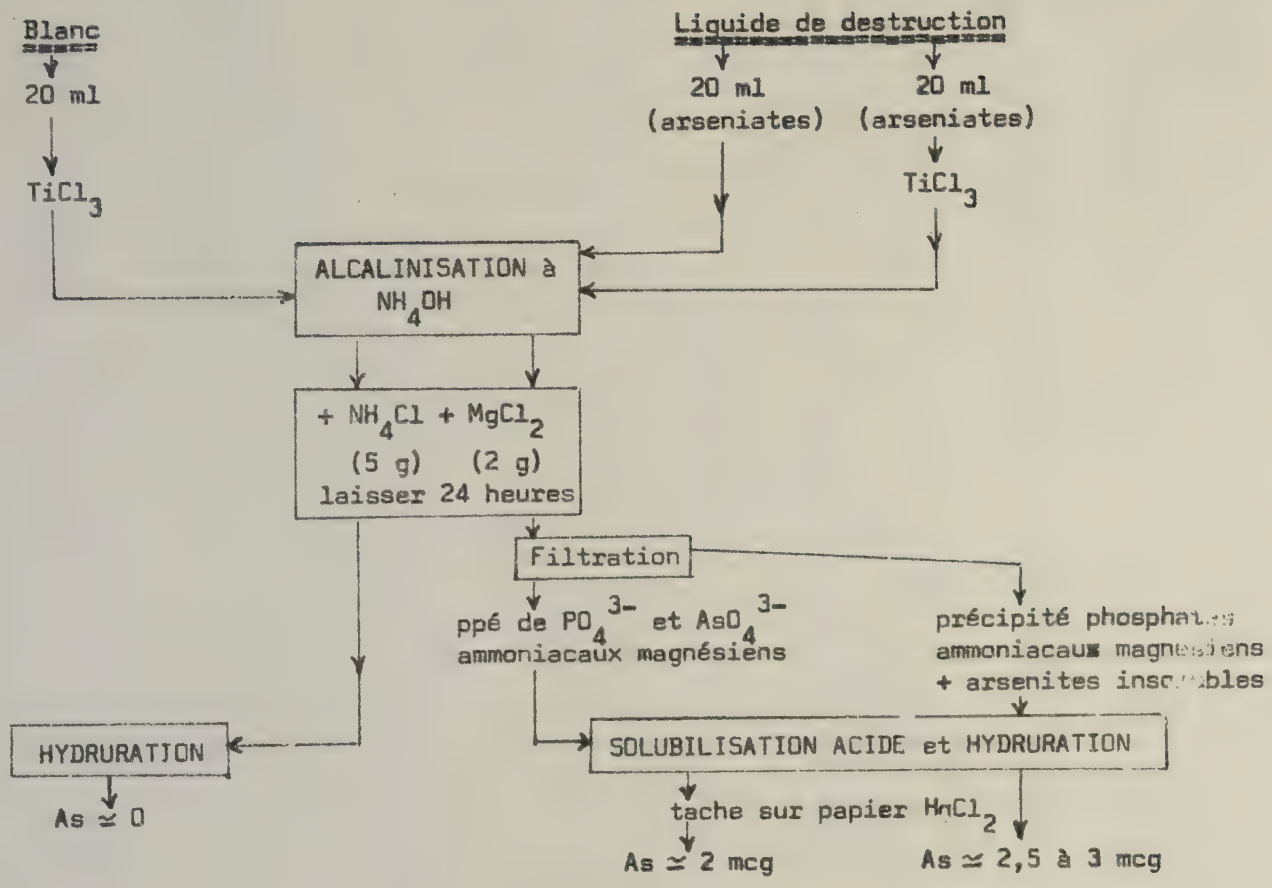
NH_4Cl suprapur Merck ..... 5 g
$MgCl_2$ ..... 2 g
NH_4OH q.s. pour neutraliser
Solution aqueuse de $TiCl_3$ à 15 p.100.

Technique :

Réduire 20 ml du liquide de destruction urinaire par 1 ml de solution de $TiCl_3$; l'ion arsénique est réduit en ion arsénieux. Alcaliniser avec l'ammoniaque et ajouter le chlorure d'ammonium puis le chlorure de magnésium (le Titane en excès s'insolubilise sous forme d'hydroxyde) ; laisser la précipitation s'effectuer durant 24 heures.

Filtrer sur verre fritté et laver à l'eau distillée ; reprendre le précipité par une solution légèrement acide qui le solubilise et soumettre le liquide obtenu à l'hydrogénation classique.

Le schéma de cette technique est illustré page suivante.


Blanc
20 ml
TiCl3
Liquide de destruction
20 ml (arseniates)
20 ml (arseniates)
TiCl3
ALCALINISATION à NH4OH
+ NH4Cl + MgCl2
(5 g) (2 g)
laisser 24 heures
Filtration
ppé de PO4 3- et AsO4 3- ammoniacaux magnésiens
précipité phosphatés ammoniacaux magnésiens + arsenites insolubles
HYDRURATION
As ≃ 0
SOLUBILISATION ACIDE et HYDRURATION
tache sur papier HnCl2
As ≃ 2 mcg
As ≃ 2,5 à 3 mcg

Observations :

La tache correspondante au liquide N° 2 non réduit est sensiblement de 2 mcg d'As ; celle du liquide N° 3 est nettement supérieure (2,5 à 3 mcg). Ceci signifie que tout l'Arsenic a été concentré dans le précipité et que l'hydrogénation a été bien meilleure sur le liquide réduit. On peut penser que les arsénites insolubles ainsi formés sont entraînés par le précipité phospho-ammoniacal-magnésien.

4° - DOSAGE DE L'ARSENIC PAR L'INTERMEDIAIRE DE LA THIONALIDE :

Nous avons pratiqué deux essais sur 20 ml du liquide de destruction en appliquant point par point la méthode décrite en première partie c'est à dire en lavant le précipité (sans solubilisation dans un solvant organique) et après destruction du filtre et de son contenu ; le dosage a été effectué sur la totalité du résidu de cette minéralisation.

Résultats obtenus

N° Essai	Blanc	Essai N° 1	Essai N° 2
D.O.	0	10	11
mcg As	0	3,4	3,6

Ceci correspond donc à une dose de 70 mcg d'As par litre. Ce liquide de destruction ainsi parfaitement défini par sa concentration en phosphates et en arséniates dosés par notre technique nous servira de référence dans les opérations qui vont suivre.

5° - DOSAGE A LA THIONALIDE SUR UN LIQUIDE DE DESTRUCTION SURCHARGE EN As :

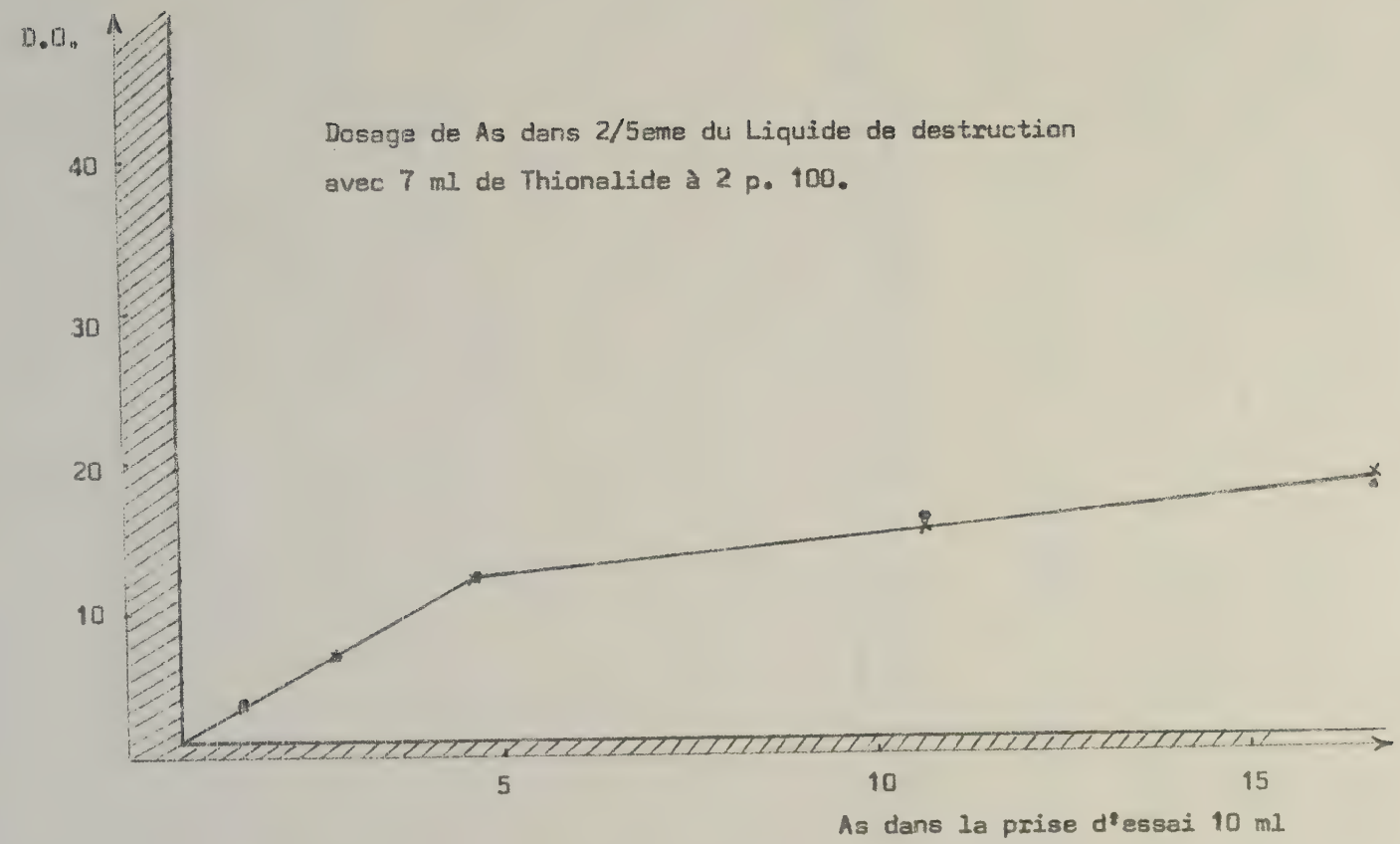
A 5 ml du liquide de destruction nous avons ajouté des quantités croissantes de solution arsénicale à 1 mcg par ml ; le mélange a toujours été complété à 50 ml. Après neutralisation par de l'ammoniaque nous avons appliqué la technique précédemment décrite et notre dosage a porté, comme précédemment, sur les 2/5e du liquide de destruction concernant le filtre et le précipité.

Résultats :

Ils sont mentionnés dans le tableau et illustrés dans la courbe suivants.

Densité optique sur 2/5 de la prise d'essai
composé de 5 ml de L.D. et d'une surcharge d'As.

As total du L.D.	LIQUIDE de DESTRUCTION : 5 ml + As en mcg					
	0	2	5	10	25	40
Quantité dosée	2/5	2/5	2/5	2/5	2/5	2/5
As normal dans les 2/5 de la prise.	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7
Surcharge	0	0,8	2	4	10	16
TOTAL théorique d'As	0,7	1,5	2,7	4,7	10,7	16,7
D.O. trouvée	1	4	7	12	15	18
As total retrouvé	0,35	1,3	2,3	4,1	5	6



Dosage de As dans 2/5eme du Liquide de destruction
avec 7 ml de Thionalide à 2 p. 100.

Observations :

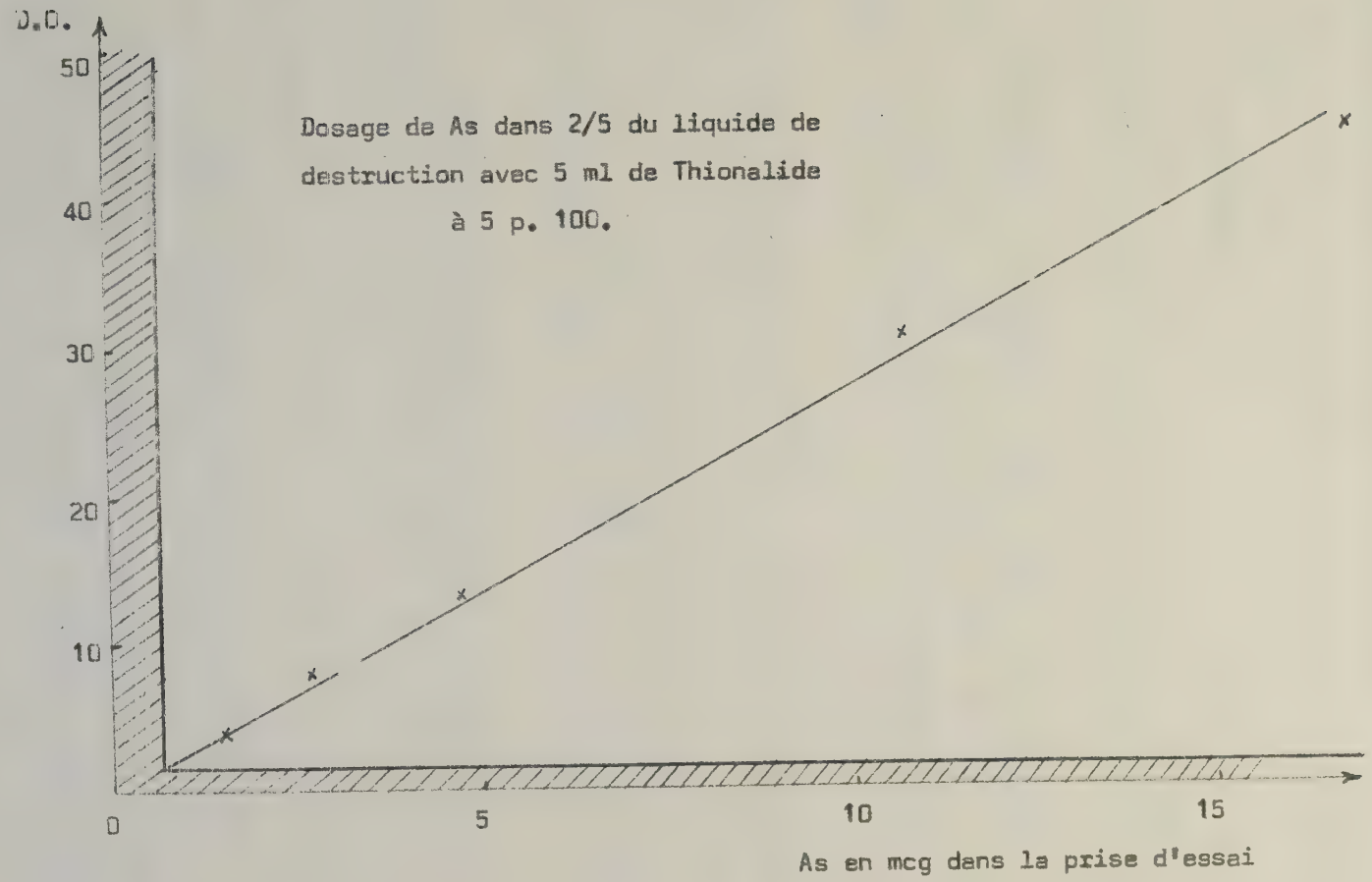
On constate très aisément, en observant le tableau et la courbe, un décrochage de la courbe à partir de la dose de 25 mcg d'As dans le liquide de destruction traité (ce qui correspond, dans notre travail et notre courbe à 10 mcg effectivement dosés). Ceci, à notre avis, provient d'un déficit en Thionalide correspondant à sa saturation. C'est pourquoi nous avons augmenté la concentration de ce réactif et avons opté pour la quantité de 5 ml d'une solution acétonique à 5 p.100.

Le Cuivre peut être rendu responsable de la saturation du réactif or cet élément est présent dans tous les liquides de destruction.

L'expérience précédente, reprise avec cette modification opératoire, a donné les résultats suivants qui confirment notre hypothèse précédente. (Voir tableau et courbes pages suivantes).

Densité optique obtenue sur la mesure de
2/5 de la prise d'essai initiale

As total du L.D. en mcg	LIQUIDE de DESTRUCTION : 5 ml + As en mcg					
	0	2	5	10	25	40
Quantité dosée	2/5	2/5	2/5	2/5	2/5	2/5
As normal dans la prise d'essai	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7
Surcharge	0	0,8	2	4	10	16
TOTAL As théorique	0,7	1,5	2,7	4,7	10,7	16,7
D.O. trouvée	1,5	3,5	8	13	30,5	44,5
As TOTAL retrouvé	0,6	1,3	2,7	4,5	10	14,6



Dosage de As dans 2/5 du liquide de destruction avec 5 ml de Thionalide à 5 p. 100.

OBSERVATIONS GENERALES SUR LA METHODE A LA THIONALIDE :

Les résultats obtenus au cours de ces études nous permettent d'émettre les observations suivantes :

1° - Sensibilité :

Cette technique est assez précise puisqu'elle peut permettre de retrouver 1 mcg d'Arsenic dans 60 ml du liquide de destruction. Elle nécessite environ une demi journée de travail.

- Avantages : le rendement oscille entre 87 et 92 p.100 ce qui est un résultat comparable à celui obtenu par la méthode de PORTMAN et RILEY. Elle est cependant moins longue qu'elle.

Le rendement est plus régulier que celui enregistré avec la méthode au diéthyl-di-thio-carbamate d'ammonium décrite dans le chapitre II.

- Inconvénients : cette métoode peut être faussée par une mauvaise élimination des phosphates : le blanc doit être absolument incolore pour pouvoir donner, à l'essai, une signification. Les réactifs utilisés après l'isolement de la Thionalide arsénicale ne doivent pas contenir la moindre impureté phosphatée. Afin de ne pas avoir d'interférences de ce chef, nous conseillons de réserver les flacons des réactifs suivants : NH_4OH, HNO_3 et H_2SO_4 à ce seul usage ; de même les pipettes seront conservées à part et rincées avec de l'eau bi-distillée.

A ce propos, la reprise du précipité par un solvant organique (éther ou chloroforme) permet de contrôler le lavage de la phase organique et d'assurer avec certitude le départ complet de tous les phosphates.

METHODE PRECONISEE :

De l'ensemble des résultats que nous avons obtenus nous proposons la technique suivante :

1° - Réduction de l'ion arsénique à l'état d'ion arsénieux

A un liquide de destruction de 200 ml d'urines complété à 50 ml, ajouter 1 ml de solution d'acide ascorbique à 5 p.100. Agiter.

Porter à début d'ébullition dans un erlenmeyer de 250 ml recouvert d'un verre de montre.

Rincer le verre de montre et les paroies de l'erlenmeyer avec le minimum d'eau distillée ; refroidir et ajouter à nouveau 1 ml de solution d'acide ascorbique à 5 p.100. Vérifier que l'acidité soit proche de 0,4 N.

2° - Précipitation du complexe Thionalide-dérivé arsénieux

Ajouter goutte à goutte, sous agitateur magnétique, 5 ml d'une solution acétonique de Thionalide à 5 p.100. Un précipité blanc apparaît puis s'agglomère. Evaporer l'acétone sous vide à 50° C et sous entraînement capillaire à l'air : la Thionalide arséniée précipite entièrement ; laisser refroidir.

3° - Récupération du précipité de la Thionalide arséniée et purification :

Filtrer, sur rondelle de papier, le précipité cristallisé obtenu et le laver sous légère dépression avec 200 ml d'eau distillée. Mettre le papier filtre et son précipité dans l'erlenmeyer où a eu lieu la précipitation. Ajouter 150 ml d'eau distillée, agiter ; on reprend ainsi la fraction de précipité restant adhérent sur les paroies. Filtrer à nouveau sur rondelle de papier neuf humidifiée ; rincer et laver le précipité avec au moins 500 ml d'eau bipermutée. Essorer le précipité sous dépression. On a éliminé ainsi théoriquement la totalité des phosphates.

4° - Minéralisation oxydative de l'Arsenic thionalidique

A ce stade deux voies peuvent être mises en oeuvre :

. minéralisation du filtre et de son précipité,

. dissolution directe du précipité dans un solvant organique.

a) Minéralisation du filtre et de son précipité :

Placer dans un Kjeldalh le précipité et son filtre ; le recouvrir de 6 ml d'acide nitrique, chauffer, ajouter 1 ml d'acide sulfurique aux premières apparitions de vapeurs nitreuses ; poursuivre classiquement la destruction nitrosulfurique et la parfaire en fin d'opération par X gouttes du mélange nitro-perchlorique (2-1).

b) Reprise du précipité en phase organique :

L'expérimentation a montré que l'on pouvait remplacer la seconde filtration et une grande partie du lavage en reprenant directement le précipité par un solvant organique ($CHCl_3$ ou éther). Dans ce cas reprendre d'une part le précipité par 10 ml de solvant et d'autre part les particules restées adhérentes sur les paroies de l'erlenmeyer également par 10 ml de ce même solvant.

Joindre les deux fractions et les laver par trois fois avec 10 ml d'eau distillée légèrement acide. On pratique directement sur ces eaux de lavage la réaction molybdique qui objectivera par l'absence ou la baisse progressive de coloration, l'élimination certaine des phosphates. La troisième eau de lavage doit rester incolore.

Transférer la phase organique dans un Kjeldalh de 100 ml, évaporer au bain-marie à 70° pour le $CHCl_3$ et à 40° pour l'éther sous légère dépression comme décrit précédemment.

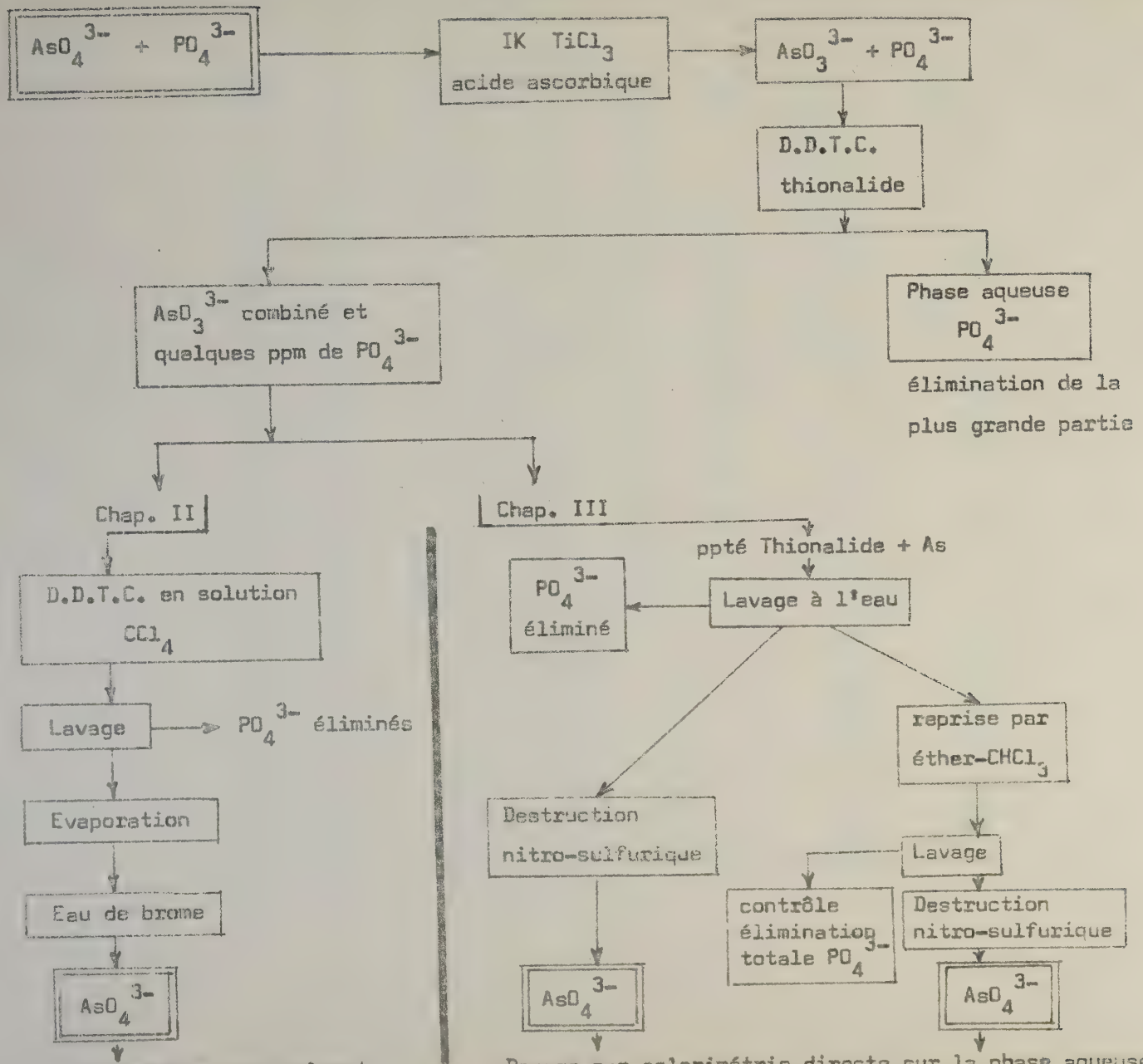
. Avec le $CHCl_3$: laisser un peu de solvant (2 ml) au fond du Kjeldalh, ajouter l'acide nitrique et détruire comme précédemment indiqué (avec 0,7 ml de H_2SO_4).

. Avec l'éther : évaporer à sec (les pertes par volatilité sont limitées vue la température modérée) ; détruire comme dans le paragraphe (a) avec (0,7 ml de H_2SO_4).

5° - Dosage colorimétrique :

Quelle que soit la technique opératoire suivie lorsque le liquide de destruction est incolore et refroidi le transvaser dans un bécher avec les eaux de lavage du Kjeldalh. Alcaliniser légèrement par addition d'ammoniaque suprapur (à la touche au papier indicateur). Compléter à 10 ml.

Ajouter 0,4 ml de réactif molybdique, transférer dans une ampoule à décanter et ajouter 10 ml de n-butyl-acétate. Extraire la coloration jaune si elle existe. Rejeter la phase organique. Prélever la moitié du liquide aqueux environ 5 ml dans un tube à essai à bouchon rodé. Recouvrir de 2 ml de n-butyl-acétate. Réduire par 0,5 ml de solution diluée de chlorure stanneux, laisser la coloration se développer 10 mn, puis prélever la phase aqueuse colorée en bleue. Lire à 720 mμ par rapport à une gamme étalon. Le tableau récapitulatif suivant illustre les deux techniques de dosage de l'Arsenic, celle au D.D.T.C. et celles à la Thionalide, que nous proposons.


AsO_4^{3-} + PO_4^{3-}
IK $TiCl_3$
acide ascorbique
AsO_3^{3-} + PO_4^{3-}
D.D.T.C.
thionalide
AsO_3^{3-} combiné et
quelques ppm de PO_4^{3-}
Phase aqueuse
PO_4^{3-}
élimination de la
plus grande partie
Chap. II
Chap. III
D.D.T.C. en solution
CCl_4
Lavage
PO_4^{3-} éliminés
Evaporation
Eau de brome
AsO_4^{3-}
Colorimétrie avec solvant
ppté Thionalide + As
PO_4^{3-}
éliminé
Lavage à l'eau
reprise par
éther-$CHCl_3$
Destruction
nitro-sulfurique
Lavage
contrôle
élimination
totale PO_4^{3-}
Destruction
nitro-sulfurique
AsO_4^{3-}
AsO_4^{3-}
Dosage par colorimétrie directe sur la phase aqueuse

CONCLUSIONS GENERALES

****

Le but de notre travail a été d'appliquer et de perfectionner la réaction arsénio-molybdique, mise au point par un de nos prédécesseurs, au dosage de l'Arsenic dans les urines sans passer par l'intermédiaire de l'hydrogène arsénié pour son isolement des phosphates.

De l'étude bibliographique effectuée et mentionnée dans la première partie, étude que nous avons résumée dans un tableau dichotomique, nous avons retenu les divers points suivants en vue de notre expérimentation.

. Extraction séparative par solvants sélectifs des complexes arsénio et phospho-molybdiques.

. Réduction totale de l'ion arsénique en ion arsénieux ou en cation arsenic par divers réducteurs.

. Combinaisons des divers ions précédemment obtenus avec des composés organiques soufrés facilement isolables soit par extraction par solvant organique, soit par insolubilisation en milieu aqueux. Ces combinaisons permettent un isolement rigoureux des phosphates et la possibilité, par oxydation, de la reconstitution de l'ion arsénique que l'on pourra doser, ainsi, sélectivement sans craindre l'interférence des phosphates.

Dans la deuxième partie, nous avons, en fonction de ces données, exposé nos recherches et nos résultats en trois chapitres :

- Dans le premier chapitre nous avons augmenté la sensibilité du dosage colorimétrique de l'acide arsénio-molybdique réduit

en extrayant la coloration bleue par la méthyl-isobutyl-cétone ; dans certaines conditions opératoires, que nous avons précisées, nous avons pu ainsi doser, sur une solution pure, un centième de microgramme d'Arsenic par millilitre (10^{-8} g As/ml).

Mais nous nous sommes aperçu que la possibilité d'extraction totale est liée à la concentration en électrolytes du milieu aqueux. Nous avons mis au point une méthode colorimétrique de lecture directe sur la phase aqueuse utilisable pour les liquides de minéralisation riches en électrolytes mais exempts de phosphates.

La technique d'extraction sélective sus-citée du dérivé arsénio-molybdique réduit ne peut donc pas être appliquée directement au liquide de destruction d'un des échantillons biologiques.

- Dans le second chapitre, nous avons étudié une méthode assez rapide qui permet de doser l'Arsenic dans un milieu riche en phosphates. Seuls l'étain et l'antimoine interfèrent par suite de la saturation du réactif organique qu'ils entraînent. Le diéthyl-di-thio-carbamate d'ammonium complexant l'Arsenic trivalent, obtenu préalablement par réduction de l'ion arséniate au moyen de l'iodure de potassium, est extrait par le tétrachlorure de Carbone. L'eau de brome restitue ultérieurement l'Arsenic sous forme d'arséniates dosables : d'où la séparation d'avec les phosphates et la possibilité d'application secondaire de la réaction arsénio-molybdique.

Nous avons mis au point un protocole opératoire.

- Dans le troisième chapitre, nous avons pratiqué l'isolement de l'ion arsénieux (obtenu par réduction préalable des arséniates présents au moyen de l'acide ascorbique) par l'intermédiaire de sa combinaison, rigoureusement insoluble dans l'eau, avec la Thionalide. L'Arsenic de cette combinaison est isolé soit sous forme de précipité, soit par l'intermédiaire d'un solvant organique dont les eaux de lavage permettront un rigoureux contrôle de l'élimination totale des phosphates.

Après minéralisation oxydative du composé thionalidique isolé on poursuit le dosage colorimétrique de l'acide arsénio-molybdique réduit tel que nous l'avons décrit dans notre premier chapitre. Cette méthode assez précise qui permet de retrouver 1 mcg dans 200 ml d'urines, demande toutefois un temps plus long que celle que nous avons précédemment exposée au second chapitre.

TABLE DES MATIERES

****

pages

INTRODUCTION

PREMIERE PARTIE : Bibliographie

- Historique des méthodes proposées 4
- Etude particulière des différentes techniques proposées par les auteurs dans chaque groupe préalablement cité 7

. A) Méthodes par précipitation 7
. B) Séparation par solvant sélectif 15
. C) Méthodes chimiques par réductimétrie 20
. D) Dosage colorimétrique 26

a) A base de complexe molybdique 26
b) Dosage de l'ion arsénieux 30

. Tableau récapitulatif 33

DEUXIEME PARTIE

- Chapitre premier :

I - Perfectionnement du dosage colorimétrique de l'Arsenic après extraction du complexe cerruléo-molybdique 35

II - Dosage colorimétrique direct de l'Arsenic en phase aqueuse 42

III - Conclusions 45

- Chapitre deuxième : méthode au diéthyl-di-thiocarbamate

. Historique 47
. Technique 50
. Conclusion 57

pages

- Chapitre troisième : méthode à la Thionalide

Introduction 59

I - Essai sur les solutions arsénicales pures ... 60
II - Essai sur des solutions arsénicales et phosphatées 71
III - Essai sur un liquide de destruction urinaire. 76

. Observations générales 85
. Méthode proposée 88

CONCLUSIONS GENERALES 92

****

B I B L I O G R A P H I E

****

(1) - TAKASHI TANAKA. Chem. Abstract: 1964 - n° 1689.

(2) - WILSON. The Analyst : 1951 - 76 - 65.

(3) - HESLOP (R.B.) et PEARSON (E.F.). Analyt. Chim. Acta : 1967 - 37 - 102.

(4) - FERLUND (N) et ZECHNER (S). Z. Anal. Dtsh : 1955 - 146 n° 2 - 111.

(5) - HESLOP (R.B.) et PEARSON (E.F.). Analyt. Chim. Acta : 1967 - 39 - 209.

(6) - GING (N.S.). Analyt. Chem. : 1956 - 26 - 1330.

(7) - DEBSAL (J.L.) et MANHOURI (H.) Bull. Soc. Chim. Biol. : 1955 - 37 - 1041.

(8) - KINNUHEN (J) et MERIKANTO (B). Chem. Analyst. : 1953 - 42 - 88.

(9) - NAMIKI (H). Jap. Analyst. : 1961 - 10 - 945.

(10) - DANIELS (M). Analyst. : 1957 - 82 - 133.

(11) - RUFF (E). Z. Anal. Chem. : 1956 - 151 - 169.

(12) - TOMINAYA (A) et WATABENE (S). Jap. Analyst. : 1956 - 5 - 495.

(13) - PAUL (J) et POVER (W.F.R.). Analyt. Chim. Acta : 1960 - 22 - 185.

(14) - PAUL (J). Analyt. Chem. Acta. : 1960 - 23 - 178.

(15) - DE SESA (M.A.) et ROGERS (B). Analyt. Chem. : 1954 - 26 - 1381.

(16) - DEWAUD. Cercet. Stud. Ser. Chim. (Timisoara) : 1957 - 4 - n° 1 et 2 - 111.

(17) - ISHIBASHI (M) et TABUSHI (M). Jap. Analyst. : 1959 - 8 - 589.

(18) - TOSKIYASU (K) et MITSURURA. J. Chem. Soc. Japan : 1955 - 76 - n° 5 - 520.

(19) - CLABAUGH (S) et JACKSON (A). J. of Research. Nat. Bur. Stand. : 1959 - 62 - n° 5.

(20) - KLEIN (A.K.) et VORHES (F.A.). J. Ass. Agr. Chem. : 1939 22 - 121.

(21) - DREULLE (N). Chimie Analytique : 1961 - 43 - 165.

(22) - MIGEON (E) et MIGEON (J). Chimie Analytique : 1961 - 43 - 276.

(23) - TANAKA (K). Jap. Analyst. : 1960 - 9 - n° 81 - 700.

(24) - PORTMAN (J.E.) et RILEY (J.P.). Analyt. Chim. Acta : 1964 - 31 - 510.

(25) - GULLSTROM (D.K.) et MELLON (M.G.). Anal. Chem. : 1953 - 25 - 1809.

(26) - WYATT (P.F.). Analyst. : 1955 - 80 - 368.

(27) - FAURE (J). Thèse de Doctorat Pharmacie Bordeaux 1953.

(28) - CASTAGNOU (R). et JACQ. Bull. Soc. Pharmacie Bordeaux : 1960 - 99 - 77.

(29) - CASTAGNOU (R). et SYLVESTRE (M). Bull. Soc. Pharmacie Bordeaux : 1968 - 107 - 27.

(30) - SPECTROPHOTOMETRIC DATA FOR COLORIMETRIC ANALYSIS.

(31) - PAYNE (S.T.). Analyst. : 1952 - 77 - 278.

(32) - FOWLER (E.W.). The Analyst. : 1963 - 88 - 380.

(33) - LUKE et CAMPBELL (M.E.). Anal. Chem. : 1953 - 25 - 1588.

(34) - BONINI (M). Thèse de Pharmacie Faculté de Bordeaux
Nov. 1968.

****

Vu, BORDEAUX le 28 Octobre 1969

Le Doyen : H. BRICAUD

Vu, le Président de Thèse

R. CASTAGNOU

Vu et permis d'imprimer

BORDEAUX le 28 Octobre 1969

Le Recteur : J. BABIN.